


2010

MANUAL DE PROCEDIMENTOS PARA ANÁLISE DE SEMENTES FLORESTAIS



Manuel de Jesus da Lima Jr.



MANUAL DE PROCEDIMENTOS
PARA ANÁLISE DE
SEMENTES FLORESTAIS

Manuel de Jesus da Lima Jr.

2010





O Manual de Procedimentos para Análise de Sementes Florestais
foi publicado em 2010.

Copyright:

O manual de procedimentos para Análise de Sementes Florestais está disponível no site da Rede de Sementes da Amazônia www.sementesrsa.org. O texto da publicação pode ser reproduzido em parte ou completo, desde que citado a fonte.

Citação:

Lima Junior, M. J.V. *ed.* Manual de Procedimentos para Análise de Sementes Florestais. 146p, UFAM - Manaus-Amazonas, Brasil.

Endereço:

UFAM – Universidade Federal do Amazonas, Centro de Sementes de nativas do Amazonas (CSNAM)- Faculdade de Ciências Agrárias. Av. General Rodrigo Otavio Jordão Ramos, 3000, Japiim CEP. 69077000. Manaus- Amazonas

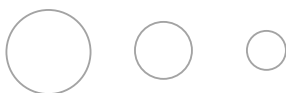
Editor: Manuel de Jesus Vieira Lima Junior

Fotografia: Vanessa Souza da Silva

Projeto gráfico: Raul Sena
Manaus- AM

Apoio:

O manual tem apoio do projeto CNPq CT- Amazônia, intitulado **Manutenção de Germoplasma ex situ e Fomento à Propagação de Espécies Nativas**, Rede de Sementes da Amazônia, Rede de Sementes RIOESBA, Rede de Sementes Rio-São Paulo e Curso de Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais-UFAM.





Índice

CAPÍTULO 1

Análise de sementes >> 5

CAPÍTULO 2

Amostragem >> 15

CAPÍTULO 3

Análise de pureza >> 27

CAPÍTULO 4

Determinação do grau de umidade >> 39

CAPÍTULO 5

Teste de germinação >> 55

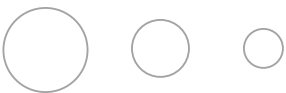
CAPÍTULO 6

Determinações adicionais >> 123

CAPÍTULO 7

Limpeza de materiais, equipamentos
e instalações do laboratório de
análise de sementes >> 127





Análise de sementes

*Lima Jr., M.J.V., Figliolia, M.B., Piña-Rodrigues, F.C.M.;
Gentil, D.F.O.; Souza, M.M.; Silva, V.S.*

1.1 A finalidade da análise de sementes

Com a intensificação do comércio de sementes, começaram a surgir problemas relacionados à avaliação da qualidade. As adulterações para a venda eram de ocorrência bastante comum. As boas sementes eram misturadas com sementes de qualidade inferior, que tornava praticamente impossível a distinção entre elas [2].

Estas e outras práticas inescrupulosas estimularam, em muitos países, um estudo mais intenso e aprimorado da Tecnologia de Sementes e criação de laboratórios onde as sementes pudessem ser analisadas. Assim, a análise de sementes teve a sua origem determinada pela necessidade de regulamentar o comércio de avaliar e definir padrões de qualidade, detectar fraudes e gerar conhecimento para o estabelecimento de leis [2].

A única maneira segura de conhecer a qualidade real de um lote de sementes é através da análise física e fisiológica, bem como saber das peculiaridades de cada espécie para poder interpretar corretamente os resultados. Isto representa garantia para produtores, comerciantes e



agricultores, por possibilitar a aquisição de lotes de sementes com qualidade conhecida e, ao mesmo tempo, reduzir riscos provenientes da aquisição de produtos com qualidade desconhecida e com preços irrealistas, não condizentes com o lote [2].

Durante o beneficiamento, as sementes são submetidas a procedimentos manuais ou mecânicos que, quando não ajustados corretamente à espécie, podem não efetuar a limpeza necessária, a correta classificação e, até mesmo, provocar danos às sementes, afetando o seu poder germinativo e seu vigor [2]. As informações, que permitem avaliar se as técnicas de beneficiamento estão sendo ou não adequadas, são obtidas através de análises de amostras retiradas antes e durante o beneficiamento, o que resulta em objeto de pesquisa da qualidade de sementes das espécies florestais nativas.

Após o beneficiamento, as sementes devem ser misturadas para promover uma boa homogeneização, ser acondicionadas em embalagens apropriadas, constituindo assim o lote respectivo, que deverá ser armazenado em ambiente apropriado à natureza da semente. Desse lote, deve ser retiradas amostras de sementes destinadas às análises de pureza física, de umidade, de germinação e peso de mil sementes, entre outras, a fim de determinar sua qualidade. É importante que a amostragem seja feita corretamente de modo a representar com segurança a qualidade do lote que a originou.

Todas as sementes comercializadas devem ser embaladas e etiquetadas. Na etiqueta devem constar, de maneira clara e completa, o nome da espécie, a procedência das sementes, a identificação do produtor e os atributos das sementes como porcentagem de germinação, de pureza, e de teor de água das sementes. Os dados de identificação do lote e da qualidade das sementes contidas nas etiquetas das embalagens permitem aplicação e a fiscalização da Legislação Brasileira sobre Sementes e Mudas [2].

Uma vez embaladas e convenientemente etiquetadas, as sementes são postas à venda de acordo com

padrões pré-determinados. Durante este período, tais sementes estão sujeitas à fiscalização do comércio por parte dos órgãos oficiais, que retiram amostras de diferentes lotes das diferentes espécies e procedências para análise e comparações. Caso os resultados não correspondam aos que estão especificados na etiqueta ou não preencham os padrões mínimos para a comercialização, as sementes podem ser retiradas do comércio e o responsável sujeito às sanções [2].

Toda a comercialização dentro do país, as exportações, a fiscalização e a legislação de sementes encontram-se respaldadas pelos resultados dos testes realizados em Laboratórios de Análise de Sementes, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (RAS).

A fixação de bases para a distribuição, valoração, armazenamento, necessidade de tratamento e descarte de sementes, também é feita em função da análise de sementes. As análises de sementes realizadas antes ou durante o período de armazenamento são úteis para indicar se todo o processo de produção de sementes foi feito corretamente; por exemplo, o grau de umidade das sementes, mostra se as sementes necessitam ou não de secagem; o valor de pureza diz se as sementes precisam de ser beneficiadas novamente; se há infestação de patógenos; entre outros [2].

Uma vez satisfeitos os padrões mínimos, um lote de qualidade superior pode ser comercializado a um preço melhor do que um lote de qualidade inferior, mesmo estando de acordo com os padrões. Desta forma, permite estabelecer bases de referência para a compra e venda [2].

Após a interpretação dos resultados da análise, pode-se determinar o valor das sementes para a semeadura. Muitas vezes, a utilização de sementes de baixa qualidade tem como consequência a necessidade de ressemeadura; esta operação é extremamente prejudicial porque, além de onerar o processo de produção, pela aquisição de nova quantidade de sementes e por repetir a operação, pode haver a perda da época mais recomendada

para a semeadura [2].

Durante as diversas fases da produção de sementes, a análise pode ser feita com o objetivo de avaliar a qualidade das sementes e, com isto, identificar problemas e suas possíveis causas, e desenvolver ou sugerir métodos para corrigi-los. Assim, um laboratório de análise é um centro de controle de qualidade, onde há possibilidade de se determinar em que ponto do programa houve falhas, comparar lotes de diversas procedências, além de contribuir para a manutenção ou melhoramento da qualidade dos lotes [2].

1.2 A importância das Regras para a Análise de Sementes (RAS)

A análise de sementes é realizada com a principal finalidade de avaliar o conjunto de características que determinam o valor das sementes para comercialização e armazenamento. Porém, para que os objetivos esperados sejam atingidos, é necessário que se tenham instalações e equipamentos adequados, pessoal treinado, métodos e procedimentos padronizados, e um programa de pesquisa em análise de sementes que procure desenvolver novos métodos e aperfeiçoar os existentes, possibilitando também estabelecer parâmetros de comparação entre diferentes lotes, bem como as condições adequadas de armazenamento [1].

É de fundamental importância que os métodos padronizados forneçam dados precisos e confiáveis. Os resultados somente terão o valor necessário e indispensável, se forem comparáveis entre diferentes análises, analistas e laboratórios, dentro de uma determinada tolerância. Entretanto, os níveis de precisão e de uniformidade dos resultados são limitados pelo conhecimento da espécie, pelos equipamentos disponíveis e pela habilidade do analista.

As Regras para Análise de Sementes (RAS) reúnem um conjunto de técnicas, procedimentos e prescrições que norteiam o tecnologista na realização da análise,

padronizando a metodologia empregada para uma dada espécie. Os métodos incluídos nas RAS passam, previamente, por processos de aferição e validação da metodologia, cujos dados podem ter sido obtidos tanto em pesquisas científicas, como no acúmulo de experiências e observações efetuadas em análises de rotina. Ambos os caminhos têm a sua importância e devem continuar a ser seguidos; no entanto, programas de pesquisa destinados ao aperfeiçoamento da metodologia devem ser considerados como prioritários, visando revisões e atualizações para melhor atender às exigências do progresso da tecnologia de sementes [1].

Os tecnólogos de sementes florestais têm encontrado dificuldades no estabelecimento de condições e técnicas adequadas para os diferentes tipos de sementes, devido à grande variação morfológica que apresentam. Soma-se a isso o fato de que, em muitas espécies nativas, trabalha-se com o fruto e não com a semente, uma vez que a sua extração é trabalhosa, como ocorre em *Centrolobium tomentosum*, *C. robustum*, *Dypterix alata*, *Alleurites mollucana* e *Pterodon pubescens*, entre outras. Há também, o caso de sementes que estão contidas no interior de vagens indeiscentes e de difícil beneficiamento, como em *Peltophorum dubium* e *Mimosa scabrella*, cujas técnicas de beneficiamento já foram estudadas e estabelecidas. Essa grande diversidade na morfologia dos frutos e sementes de espécies florestais nativas tem comprometido e, muitas vezes, causado insegurança quanto à confiabilidade dos resultados obtidos nas análises [1].

A partir de 1967, com a implantação de incentivos fiscais aos (re) florestamentos, houve demanda de sementes florestais em larga escala no Brasil. Após 40 anos, considera-se que a pesquisa na área de análise de sementes florestais fez avanços consideráveis, mas ainda há um grande número de espécies florestais nativas, de valor econômico para o Brasil, sobre as quais existem poucas informações [3]. Somente com a ampliação do conhecimento gerado pela pesquisa em análise e tecnologia de

sementes de espécies florestais nativas, espera-se que sejam realizados, periodicamente, procedimentos de validação de testes e a inclusão dessas novas espécies nas RAS.

1.3 Atividades do laboratório de sementes

O cotidiano dos serviços, relacionados à análise de sementes, contempla uma rotina estabelecida através das seguintes atividades principais:

- Amostragem;
- Recebimento e protocolo das amostras;
- Preparação da amostra de trabalho;
- Análise de pureza;
- Peso de mil sementes;
- Determinação do grau de umidade;
- Teste de germinação;
- Arquivo da contra-amostra;
- Emissão de boletins;
- Emissão de resultados;
- Limpeza de materiais, equipamentos e instalações.

1.4 Infraestrutura do laboratório de sementes

Para a instalação de um laboratório é necessária uma infraestrutura mínima adequada às normas específicas e ao volume de sementes que será analisado, composta por [4]:

- **Sala de recepção e protocolo:** a sala deve ser ampla e conferir suporte necessário ao armazenamento das amostras. É o local onde se realiza a checagem e a confirmação das informações inerentes às amostras e lotes de se-

mentes, e posterior protocolo.

- **Sala de preparação das amostras:** é o local onde as amostras recebidas serão homogeneizadas e reduzidas aos pesos adequados para as análises. Deve possuir divisores e homogeneizadores apropriados às diferentes espécies, bandejas, placas de petri, balanças analíticas com precisões variadas, dentre outros materiais.
- **Sala de instalação e avaliação dos testes:** é a sala onde os testes serão realizados e avaliados, com bancadas, mesas e cadeiras de alturas apropriadas, além de material e equipamentos de suporte às avaliações, como pinças, luminárias e lupas de aumentos de acordo com a necessidade dos diferentes testes, paquímetro digital, papel específico para germinação, reagentes, dentre outros.
- **Sala do teste de umidade:** é a sala de instalação e avaliação dos testes de umidade, com bancada apropriada para o uso de balanças analíticas, dessecadores, estufas de secagem, cadinhos e demais materiais e equipamentos empregados nessa análise. Deve conter uma ante-sala e estar posicionada em local livre de correntes de ar.
- **Sala de germinadores (câmaras de germinação):** É o local que contem os germinadores, em número suficiente, com termômetros de máxima e mínima, e ser refrigerada.
- **Sala de arquivo de contra-amostras:** é o local onde serão armazenadas as contra-amostras compatíveis com o número de amostras recebidas, protegido contra a ação de insetos e roedores, com sistemas de refrigeração e de desumidificação do ar, visando garantir a conservação das contra-amostras dos lotes de sementes até o período recomendado ao descarte.
- **Escritório:** é o local onde, após a emissão dos formulários de avaliação dos diferentes testes,

os resultados das análises serão analisados e processados para compor os respectivos boletins de análise, com equipamentos e material de consumo necessário.

Todos os equipamentos apropriados às análises, como paquímetros digitais, balanças analíticas, estufas e câmaras de germinação (Figura 1), devem ser periodicamente, calibrados e submetidos à manutenção para assegurar a precisão dos resultados.

Figura 1. Equipamentos utilizados em laboratório de sementes.



Câmara de germinação



Balança analítica de precisão



Estufa de secagem



Dessecador

1.5 Perfil dos profissionais do laboratório de sementes

O perfil das pessoas envolvidas é determinante para o sucesso, porque o trabalho exige responsabilidade, disciplina, organização, acuidade visual e, principalmente, paciência, por se tratar de uma atividade rotineira, que exige horas de dedicação para a realização e encerramento de uma análise. Outros aspectos relevantes são a ética profissional e a capacidade de apresentação, defesa, discussão e argumentação sobre os testes, além da habilidade em trabalhar em equipe [4].

A avaliação da qualidade do trabalho dos analistas e técnicos de laboratório é realizada, normalmente, através de testes de aferição, treinamentos e reciclagens. Quando são verificadas dificuldades na execução de testes para uma dada espécie, torna-se necessário buscar treinamento específico até a adequação necessária, para que todos atendam o mesmo padrão referencial [4].

1.6 Referências

- 1 FIGLIOLIA, M.B.; OLIVEIRA, E.C.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. Análise de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (coord.) *Sementes florestais tropicais*. Brasília: ABRATES, 1993. p.137-174.
- 2 MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.
- 3 SILVA, E.M.N. Laboratório de análise de sementes (LAS) e regras para análise de sementes (RAS). In: RODRIGUES, F.C.M.P. (coord.) **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1988.

p.41-43.

4 ZORATO, F. Evolução do laboratório de análise de sementes. Net, **Revista SEED News**, nov. e dez., ano IX, n. 6. Disponível em: < <http://www.seednews.inf.br/portugues/seed96/artigocapa96.shtml> > . Acesso em: 12 mar. 2009.

Amostragem

*Lima Jr., M.J.V., Figliolia, M.B., Piña-Rodrigues, F.C.M.;
Gentil, D.F.O.; Souza, M.M.; Silva, V.S.*

2.1 Introdução

A quantidade de sementes encaminhada aos laboratórios para análise é, em geral, muito pequena em relação ao tamanho do lote que representa. Desse modo, a finalidade da amostragem é obter uma amostra que represente o lote, de tamanho representativo para os testes, na qual estejam presentes os mesmos componentes e em proporções semelhantes do lote de sementes que a originou [1].

Como exemplo, em um lote com massa de 1 tonelada de sementes de *Pinus caribaea*, as RAS recomendam que a amostra a ser remetida ao laboratório sejam no mínimo de 100g, o que significa a redução de 10.000 vezes o tamanho do lote. Isto reflete a importância da amostragem correta, em que seja mantida a composição inicial do lote e nas mesmas proporções [2].

Uma das características mais importantes de um lote é a sua homogeneidade. Assim, quanto maior for a homogeneidade do lote de sementes, mais representativa será a amostra destinada à análise. O conceito de lote ho-



homogêneo é dado como sendo uma quantidade de sementes cujas partes que a compõem estejam razoável e uniformemente distribuídas por toda a sua massa. Esta uniformidade se refere em qualquer um dos atributos que possa ser determinado em um exame ou teste [3].

Na prática, a amostragem será recusada se o lote for tão heterogêneo que as diferenças entre as amostras simples sejam visíveis ao amostrador. Caso seja verificada a heterogeneidade em um lote de sementes, este problema pode ser resolvido dividi-se o lote em outros menores, fazendo uma nova homogeneização do lote ou realizando novo beneficiamento [1].

2.2 Definições

As Regras de Análise de Sementes definem:

- Lote: é uma quantidade definida de sementes, identificada por letra, número ou combinação dos dois, da qual cada porção é, dentro de tolerâncias permitidas, homogênea e uniforme para as informações contidas na identificação [1] (Figura 1).

Figura 1. Lote de semente de leucena (*Leucaena leucocephala* Lan).



Para sementes florestais o lote deve ser constituído por sementes colhidas numa mesma época, mesmo estágio de maturação, tendo a mesma origem ou procedência, especificando-se o tipo de área em que as sementes foram produzidas (área de colheita – ACS, área de produção – APS ou pomar de sementes - PS), ou a categoria de sementes (identificada, selecionada, qualificada ou testada). Para o seu acondicionamento, são empregados diversos tipos de recipientes, como sacos de algodão ou plástico, barricas de papelão ou caixas de madeira. O lote pode ser constituído por um ou vários recipientes [2].

As RAS prescrevem o tamanho máximo do lote para várias espécies florestais exóticas; no entanto, não existem prescrições para a grande maioria de espécies nativas [2]. O peso máximo do lote pode ser determinado por comparação com uma espécie cujas sementes tenham tamanho e peso semelhante ao da espécie em análise tamanho do lote depende da espécie e do tamanho das sementes, sendo no máximo de 5.000 kg (como *Quercus* spp.) para sementes de dimensões iguais ou maiores do que as de quiabo, e no mínimo 1.000 kg (como *Cedrela* spp, *Pinus* spp. e *Eucalyptus* spp.) para sementes menores do que as de quiabo. Nas RAS espécies florestais com tamanho máximo de lote. *Acer* spp. 500 kg; *Betula* spp, *Calocedrus* e *Taxodium distichum* 300 kg.

Devido à irregularidade de produção e à baixa produtividade, é comum um número considerável de espécies brasileiras florestais nativas produzirem, em determinados anos, uma quantidade tão pequena de sementes fazendo com que os lotes apresentam geralmente poucas sementes. Outro aspecto importante a ser considerado é o tamanho das sementes, especialmente as grandes, como *Dypterix alata*, *Alleurites mollucana*, *Terminalia catappa*, entre outras, que contêm cerca de 60, 100 e 200 sementes/kg, respectivamente. Neste caso, pode acontecer que o lote contenha apenas as sementes necessárias para as demandas de plantio, não havendo sementes suficientes para os testes de controle de qualidade [2].

- **Amostra simples:** é uma pequena porção de sementes retirada de um ponto do lote, por meio de aparelho mostrador ou manualmente, de diferentes recipientes ou pontos do lote. As porções devem ser iguais [1].
- **Amostra composta:** é a amostra formada pela combinação e mistura de todas as amostras simples do lote. Esta amostra é usualmente bem maior que a necessária para os vários testes e normalmente necessita ser adequadamente reduzida antes de ser enviada ao laboratório [1].
- **Amostra média:** é a própria amostra composta ou subamostra desta, recebida pelo laboratório para ser submetida à análise e deve ter os pesos, especificados nas RAS (Tabela 1). É geralmente resultante da homogeneização e redução da amostra composta, podendo ser a própria quando o seu peso estiver de acordo com o exigido [1].
- **Amostra de trabalho:** é a amostra obtida no laboratório, por homogeneização e redução da amostra média, até os pesos mínimos requeridos e nunca inferiores aos prescritos para os testes das RAS [1].
- **Subamostra:** é a porção de uma amostra obtida pela redução da amostra de trabalho, sendo utilizadas como replicatas (repetições) nos testes [1].
- **Amostra duplicata:** É a amostra obtida da amostra composta e nas mesmas condições da amostra média e identificada como “Amostra duplicata”. É obtida para fins de fiscalização da produção e do comércio de sementes, no caso da necessidade de uma reanálise [1].

Tabela 1. Tamanho máximo dos lotes e mínimo das amostras médias de algumas espécies florestais.

Espécies	Tamanho máximo do lote (kg)	Peso mínimo da amostra média (g)
<i>Acacia spp</i>	1.000	70
<i>Cedrela spp</i>	1.000	80
<i>Cryptomeria japônica</i>	1.000	20
<i>Cupressus sempervirens</i>	1.000	40
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	1.000	15
<i>Eucalyptus citriodora</i>	1.000	40
<i>Eucalyptus deglupta</i>	1.000	10
<i>Eucalyptus globulus</i>	1.000	60
<i>Eucalyptus grandis</i>	1.000	5
<i>Eucalyptus maculata</i>	1.000	40
<i>Eucalyptus pauciflora</i>	1.000	60
<i>Eucalyptus robusta</i>	1.000	15
<i>Eucalyptus saligna</i>	1.000	15
<i>Eucalyptus tereticornis</i>	1.000	15
<i>Ginkgo biloba</i>	5.000	500 sementes
<i>Gleditsia triacanthos</i>	1.000	800
<i>Koelreuteria paniculata</i>	1.000	800
<i>Leucaena leucocephalla</i>	5.000	240
<i>Pinus banksiana</i>	1.000	20
<i>Pinus caribaea</i>	1.000	100
<i>Pinus elliottii</i>	1.000	160
<i>Pinus kesiya</i>	1.000	80
<i>Pinus koraiensis</i>	1.000	2.000
<i>Pinus oocarpa</i>	1.000	70
<i>Pinus palustris</i>	1.000	500
<i>Pinus taeda</i>	1.000	140
<i>Taxodium distichum</i>	300	500
<i>Tectona grandis</i>	1.000	2.000

Fonte: Brasil (2009)

2.3 Procedimentos e cuidados na amostragem

Os procedimentos de amostragem incluem a homogeneização do lote e das amostras, e a retirada e a re-

dução das amostras[2].

- **Homogeneização:** se faz necessária, uma vez que os componentes mais pesados do lote tendem a se depositar na parte inferior do recipiente. Em todas as etapas do processo de amostragem e obtenção das amostras simples, é necessária a homogeneização do lote, manualmente (sementes grandes) ou com uso de equipamentos (homogeneizador de solo, divisor cônico e amostrador).
- **Retirada:** a retirada das amostras deve ser efetuada manualmente ou com uso de amostradores. A amostragem manual é a mais adequada para sementes de muitas espécies arbóreas. Neste sistema de amostragem, deve-se ter o cuidado de manter a mão fechada, evitando que as sementes escapem por entre os dedos. Entretanto, é difícil obter amostras representativas manualmente a mais de 40 cm de profundidade e, quando for necessário obtê-las, o encarregado da amostragem deve solicitar que alguns sacos ou embalagens sejam parcial ou totalmente esvaziados para facilitar à amostragem, e em seguida, reensacar as sementes.
- **Redução:** na redução das amostras são empregados divisores de solo ou cônicos de menor tamanho, ou régua quando efetuada manualmente. A porção a ser reduzida é passada no equipamento onde é dividida em duas frações, sendo uma desprezada. Com a fração restante, repete-se o procedimento até se obter a amostra do tamanho desejado. Com o uso de régua, a amostra é subdividida consecutivamente, sendo uma das porções sempre desprezada. A cada novo lote amostrado, os instrumentos e os equipamentos devem ser limpos para evitar contaminação.

2.4 Intensidade de amostragem

As RAS determinam o número de amostras simples que devem ser obtidas a cada lote de sementes. Para lotes de acondicionados em recipientes com capacidade de mais de 100kg durante o beneficiamento a RAS determinam [1]:

Lotes a granel	
Tamanho do lote (Kg)	Número de amostras simples
Até 500	5 amostras simples, pelo menos
501-3.000	1 amostra simples para cada 300Kg, mas não menos do que 5
3.001 – 20.000	1 amostra simples para cada 500Kg, mas não menos do que 10
Acima de 20.000	1 amostra simples para cada 700Kg, mas não menos do que 40

Em lotes de sementes acondicionadas em recipientes, como sacos, tambores e outros, com capacidade de até 100kg, a intensidade mínima de amostragem deverá [1]:

Lotes de sementes acondicionadas em recipientes com capacidade de até 100Kg	
No. de recipientes do lote	Número de amostras simples
1-4	3 amostras simples de cada recipiente
5-8	2 amostras simples de cada recipiente
9-15	1 amostras simples de cada recipiente
16-30	15 amostras simples no total
31-59	20 amostras simples no total
60 ou mais	30 amostras simples no total

Para sementes acondicionadas em recipientes pequenos, como latas, envelopes e pacotes usados no comércio varejista, recomenda-se que o peso máximo de 100 quilos seja tomado como unidade básica e os pe-

quenos recipientes combinados, de maneira a formar as seguintes unidades de amostragem [1]:

- 20 recipientes de 5 kg;
- 33 recipientes de 3 kg;
- 100 recipientes de 1kg;
- 1.000 recipientes de 100 g;
- 10.000 recipientes de 10 g.

A amostragem realizada nas unidades básicas deve ser feita tomando-se recipientes inteiros e fechados. Os conteúdos combinados dos diversos recipientes devem suprir as quantidades mínimas para a amostra média.

De acordo com a legislação vigente (Lei 10.711/2003 e Decreto 5.153/2004), a amostra média ou submetida será acondicionada em recipiente que deverá ser identificado com os seguintes dados: espécie, cultivar (quando for o caso), categoria, natureza da semente, data de coleta da semente, identificação do lote, indicação do tratamento, quando for o caso, determinações solicitadas, data da amostragem, identificação e assinatura do amostrador.

As sementes de natureza intolerante ao dessecamento serão amostradas somente por meio manual, acondicionadas de modo a assegurar a manutenção de sua umidade e encaminhadas imediatamente para análise.

2.5 Recepção, embalagem e armazenamento das amostras

O intervalo entre a amostragem e a análise da amostra média deve ser o menor possível, para evitar alterações na qualidade das sementes [1]. A amostra média deve estar identificada e embalada de acordo com tipo de análise a ser realizada, como por exemplo: em embalagens porosas, para os testes de pureza e germinação; embalagens herméticas e completamente cheias, para os

testes de umidade e peso de mil sementes. Após a recepção, a amostra recebe um registro para identificação interna no laboratório de sementes [4].

As embalagens individuais devem ser acondicionadas de maneira a evitar danos durante o transporte, sendo preservadas contra o excesso de calor, umidade e contaminação [1].

Caso seja necessário algum tempo para realizar a análise, a amostra média deve ser armazenada em local preferencialmente climatizado, de tal modo que as alterações na qualidade das sementes como teor de água, porcentagem de germinação e dormência sejam as mínimas possíveis.

O remanescente da amostra média, depois de retiradas as amostras de trabalho, é colocado em recipientes apropriados e irá constituir a amostra de arquivo, devendo permanecer armazenado por um período equivalente ao da validade do teste de germinação [1]. As amostras devem ser armazenadas em locais adequados, de acordo com a espécie, com controle de temperatura e umidade relativa. O laboratório não pode ser responsabilizado pelo declínio da porcentagem de germinação durante o armazenamento das amostras de arquivo.

As amostras enviadas ao laboratório em embalagens herméticas deverão ser armazenadas nas condições semelhantes às originais de embalagem.

2.6 Equipamentos e materiais necessários para a amostragem

São necessários os seguintes equipamentos e materiais [4]:

- Amostradores;
- Embalagens diversas para coleta de amostras simples;
- Divisores de amostras (divisor de solo, cônico e

centrífugo);

- Réguas e;
- Balanças.

O uso de equipamentos de amostragem tem sido restrito às espécies arbóreas florestais com sementes de pequeno tamanho, como *Eucalyptus* ssp., *Tibouchina* ssp. e *Pinus* ssp., entre outros [2]. O divisor de solo é adequado para sementes de espécies florestais, principalmente aquelas que fluem com dificuldade. No caso de sementes grandes, é empregada a redução manual.

2.7 Amostragem para sementes de espécies florestais

A irregularidade da produção e a baixa produtividade na maioria das espécies florestais, principalmente daquelas pertencentes aos grupos ecológicos das secundárias e das tolerantes, fazem com que muitas vezes não se obtenham, numa colheita, quantidades de sementes suficientes para compor uma amostra média, contendo o mínimo de 2.500 sementes para a análise de pureza, conforme as recomendações das RAS [2].

Outro problema está relacionado ao tamanho da semente. Várias espécies apresentam sementes grandes, ultrapassando o peso limite de 1.000 g para amostras de trabalho na análise de pureza, sem atingir o número mínimo determinado pela RAS. Como por exemplo, na análise de pureza de *Licania tomentosum* (oiti), que apresenta cerca de 100 sementes por quilograma, para uma amostra de trabalho prescrita pela RAS seriam necessários 25 kg, o que muitas vezes pode ultrapassar a produção de um determinado ano [2].

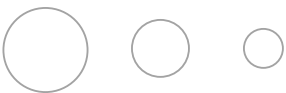
O Instituto Florestal de São Paulo adota, para casos semelhantes, o seguinte procedimento: calcula-se o número de sementes necessário para os testes de pureza, germinação e umidade e duplica-se ou triplica-se esse

valor para o estabelecimento da amostra média, em função da quantidade disponível. No caso do oiti, a amostra média seria de 2,5 kg [2].

As RAS citam que, no caso de lotes pequenos e de sementes muito caras, é permitido se trabalhar com amostras médias menores, tendo no mínimo, o peso suficiente para a realização dos testes solicitados, devendo constar o peso real da amostra média no Boletim de Análise de Sementes. São considerados pequenos os lotes iguais ou menores do que 10% do peso máximo de lote indicado nas RAS [2].

2.8 Referências

- 1 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p.
- 2 FIGLIOLIA, M.B.; OLIVEIRA, E.C; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. Análise de Sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (coord.) **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p.137-174.
- 3 MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.
- 4 SILVA, E.M.N, Amostragem. In: RODRIGUES, F.C.M.P. (coord.) **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p.44-50.



Análise de pureza

Lima Jr., M.J.V., Figliolia, M.B., Piña-Rodrigues, F.C.M.;
Gentil, D.F.O.; Souza, M.M.; Silva, V.S.

3.1 Introdução

É a primeira análise a ser realizada com a amostra de trabalho de um lote de sementes e visa avaliar, por meio de procedimentos técnicos em laboratório, a qualidade da física da semente. A análise de pureza tem como objetivo determinar a composição percentual por peso e a identidade das diferentes espécies de sementes e do material inerte da amostra e por inferência a do lote de sementes [1].

De acordo com a Lei de Sementes e Mudas, a análise de sementes deverá ser realizada em laboratório credenciado para a análise de sementes florestais e em conformidade com as metodologias e procedimentos estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes.

A amostra de trabalho é separada nos três componentes: semente pura, outras sementes (que dificilmente ocorrem em lotes de sementes florestais e somente possível no caso de o beneficiamento não ser realizado com os cuidados e técnicas devidas) e material inerte, que são indicados em porcentagem por peso da amostra de tra-



balho. As sementes puras e o material inerte são indicados em porcentagem por peso e as outras sementes indicadas relacionando-se o número de outras sementes pelo peso da amostra de trabalho. Cada tipo de material inerte presente deve ser identificado tanto quanto possível e, quando solicitado pelo requerente, sua porcentagem em peso pode ser determinada [1].

Deve-se destacar que o teste de germinação, por ser conduzido com a utilização de sementes fisicamente puras, que são separadas das amostras de trabalho recebidas, fornece resultados complementares aos da análise de pureza. Assim, o valor do lote, ou melhor, o seu potencial de estabelecimento no campo, pode ser avaliado quando se considera, em conjunto, os resultados dos testes de pureza e de germinação [3].

As amostras de sementes de natureza intolerante ao dessecamento devem ser analisadas prioritariamente.

3.2. Componentes da amostra

Sementes puras: são consideradas sementes puras todas as sementes e/ou unidades de dispersão pertencentes à espécie em exame, indicada pelo requerente ou identificada como predominante na amostra, devendo ainda ser incluídas nesta porção todas as variedades botânicas e cultivares da espécie. Considera-se a porção do lote pertencente à espécie em exame, desde que represente mais do que 5 % do peso da amostra de trabalho. Quando uma amostra apresenta duas espécies com mais de 5 % do peso da amostra, pode-se considerar que há uma mistura [1].

Além das sementes inteiras, maduras e não danificadas da espécie, devem ser incluídas como puras as sementes que se encontrarem nas seguintes condições [1]:

- Sementes inteiras de tamanho inferior ao normal, enrugadas, chochas, imaturas, trincadas, infectadas ou germinadas, desde que possam

ser definitivamente identificadas como sendo da espécie em exame;

- Sementes levemente atacadas por moléstias, desde que seja possível identificá-las com precisão como pertencentes à espécie em exame;
- Fragmentos de sementes e/ou unidades de dispersão, quebrados, porém maiores que a metade do seu tamanho original, desde que apresentem uma porção aderida do tegumento, em espécie pertencentes à família *Leguminosae*;
- Unidades de dispersão intactas também designadas como diásporos, isto é, aquênios, núculas, vagem ou sâmara, de difícil beneficiamento e cujas sementes estão contidas no seu interior, como *Peltophorum dubium*, estas podem ser analisadas e comercializadas nesta forma: a regra da metade se aplica aos fragmentos sólidos, entretanto, pode haver dificuldade na classificação das sementes que tenham um orifício no tegumento. Se o orifício for suficiente para permitir uma avaliação segura do conteúdo da semente, o julgamento é feito de acordo com o tamanho da massa de tecido remanescente. Se a verificação não puder ser feita facilmente, a semente será considerada pura. Não é preciso virar a semente à procura de orifícios ou outros danos. O analista, durante a realização do teste de pureza, não deve se preocupar com as condições fisiológicas e sanitárias das sementes, mas com a identificação desse material.

Outras sementes: devem ser incluídas, neste grupo, todas as sementes e/ou unidades de dispersão de qualquer espécie cultivada ou silvestre, bulbilhos ou tubérculos de plantas reconhecidas como daninhas ou invasoras e que não sejam as da espécie em exame. À exceção daquelas que, por serem tão mal desenvolvidas ou severamente danificadas, não concorrem com a cultura e

as quais devem ser incluídas no material inerte [1].

Em lotes de sementes florestais, a classe "outras sementes" não é comum, devido às técnicas de produção e colheita. O aspecto mais importante do teste de pureza é a proporção entre sementes puras e impurezas [2].

Material inerte: deve incluir unidades de dispersão e todos os outros materiais e estruturas não definidas como semente pura ou outras sementes, como [1]:

- Unidades de dispersão nas quais não contenha semente;
- Pedacos de unidades de dispersão quebrados ou danificados iguais ou menores do que a metade de seu tamanho original;
- As expansões aladas das sementes dos gêneros *Cedrus*, *Picea*, *Tsuga* e *Pinus*, que se encontram ainda aderidas, devem ser inteiramente removidas e consideradas como material inerte. As expansões aladas das sementes dos gêneros *Abies*, *Larix*, *Libocedrus* e *Pseudotsuga*, e das espécies *Pinus echinata*, *P. elliotti*, *P. palustris*, *P. regida* e *P. taeda*, que se encontram aderidas, devem ser removidas e consideradas como material inerte, exceto a parte que reveste a semente que é difícil de ser removida pelos processos normais de beneficiamento, sem danificar a semente. As expansões aladas dos gêneros *Acer*, *Betula*, *Catalpa*, *Chamaecyparis*, *Cupresseis*, *Fraxinus*, *Liquidambar*, *Liriodendron*, *Platanus*, *Thuja* e *Ulmus*, não devem ser removidas;
- Sementes de Fabacea, Cupressaceae e Taxodiaceae com tegumento inteiramente removido. Em Fabaceae, cotilédones separados são considerados material inerte;
- Sementes portadoras de moléstias e que tenham sido atacadas por fungos com formação de esclerócios ou grãos com carvão, bem como as galhas que resultam da infestação de nematóides,

também são consideradas material inerte;

- Todos os materiais da “fração leve”, quando a separação for feita pelo Método da Ventilação Uniforme, exceto outras sementes;
- Na “fração pesada”, quando a separação for feita pelo Método da Ventilação Uniforme, todo material que não seja semente pura e outras sementes, como partículas de solo e areia, pedras, palhas, pedaços de tegumento ou pericarpo, escamas de cones, pedaços de casca de caule e flores, cuja presença deve ser indicada no Boletim de Análise;

3.3 Equipamentos e materiais para a análise de pureza

São necessários os seguintes equipamentos e materiais: Boletim de Análise específico; divisores de amostras (de solos, cônicos ou centrífugo); balanças com diversas sensibilidades; réguas; mostruário de sementes; diversos tipos de lupas; diafanoscópio; pinças; espátulas; pincéis; estiletos; recipientes variados (vidros de relógios, placas de petri, etc.); jogos de peneiras; folhas de cartolina branca ou azul-clara; sopradores pneumáticos; dentre outros [1].

3.4 Procedimentos e cálculos

Recepção da amostra média

Ao receber a amostra média para análise de pureza, o analista deverá verificar as condições da embalagem, determinar o peso da amostra e protocolar no Boletim de Análise. Caso a amostra esteja desconforme, deve ser recusada [3].

Preparação da amostra de trabalho

A amostra de trabalho deve ser obtida por homogeneização e divisão da amostra média, de tal maneira que seja representativa do lote. Deve conter o peso exato ou ligeiramente superior ao mínimo exigido para as análises. Deve sempre ser preferido o método mecânico de divisão, mas não sendo possível o seu uso, pode se usar o método manual até alcançar o peso desejado da amostra de trabalho para a realização dos testes [1].

Peso mínimo da amostra de trabalho

Espécies relacionadas nas RAS: Os pesos das amostras de trabalho para as diferentes espécies de sementes nunca deve ser menor que o indicado para a espécie nas RAS. A análise pode ser realizada sobre uma amostra de trabalho com o peso prescrito pelas RAS ou sobre duas subamostras com no mínimo a metade deste peso, cada uma retirada independentemente da amostra média [1].

Espécies não relacionadas na RAS: O peso das amostras para a análise de pureza e das sementes nocivas pode ser determinado por comparação com uma semente de espécie relacionada nas RAS, que tenha tamanho e peso semelhante, desde que a amostra de trabalho para a pureza tenha no mínimo 2.500 sementes [1].

Para sementes extremamente grandes ou pequenas, o peso da amostra de trabalho deve basear-se numa amostra contendo nunca menos que 2.500 sementes, desde que não seja maior do que 1.000 g e nunca menor do que 0,1 g [1].

A amostra de trabalho ou as subamostras e para cada um de seus componentes devem ser pesadas, em gramas, até o número mínimo de casas decimais (Tabela 1) necessário para calcular a porcentagem de seus componentes, com uma casa decimal [1].

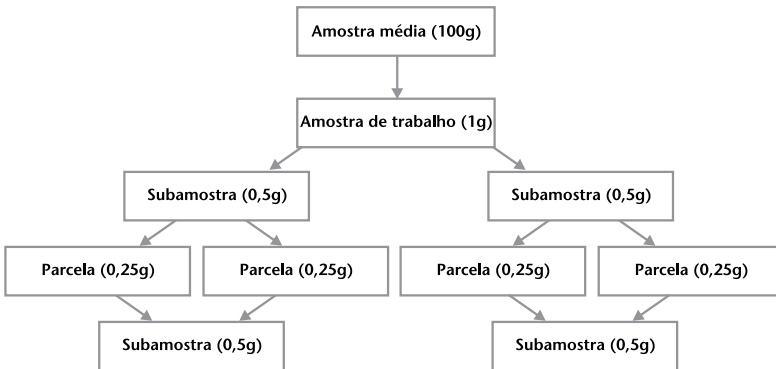
Tabela 1. Número de casas decimais exigidas para a amostra de trabalho e para cada um de seus componentes.

Peso da amostra de trabalho (g)	Número de Casas decimais
Menor que 1.000	4
1,000 a 9,999	3
10,00 a 99,00	2
100,00 a 999,9	1
1.000 ou mais	0

Fonte: Brasil (2009).

Com o avanço das pesquisas, novas metodologias vêm sendo estudadas no sentido de tornar as análises mais práticas e eficientes. Quanto à análise de sementes florestais, em especial as sementes de *Eucalyptus* spp., o tamanho prescrito para a amostra de trabalho varia de 2 a 20 g, o que demanda um tempo do laboratorista de aproximadamente 8 horas para proceder a análise de pureza, apesar do auxílio de um jogo de peneiras. Na busca de maior agilidade dos trabalhos de análise, foi sugerida uma nova metodologia (Figura 1) para *Eucalyptus* spp., em que a análise seja feita em amostras de 0,5 g, reduzindo o tempo de análise para aproximadamente 4 horas, com resultados próximos aos das amostras de 5 g. Essa metodologia deve ser ainda repetida e avaliada em vários laboratórios, para que venha constar nas RAS [2].

Figura 1. Metodologia de análise de pureza para sementes de *Eucalyptus* spp
 Fonte: Figliolia et al., (1993)



Separação dos componentes

A amostra de trabalho ou as subamostras, depois de pesadas e conferidas quanto à autenticidade dos dados do requerente com relação à espécie, deve(m) ser criteriosamente examinada(s) e separada(s) nos três componentes seguintes: sementes puras (SP), outras sementes (OS) e material inerte (MI) [1].

A separação da Semente Pura deve ser realizada com base na definição de semente pura, contida nas RAS e baseada no exame de cada partícula da amostra de trabalho, mas, em certos casos, procedimentos especiais são obrigatórios, como o uso de peneiras ou sopradores. A separação das sementes puras deve ser feita com base nas características morfológicas visíveis, por meio de pressão ou de processos mecânicos, mas sem prejudicar a capacidade germinativa das sementes [1].

Identificação dos componentes e cálculos

Após a separação dos componentes, procede-se a identificação e contagem das outras sementes encontradas na amostra, anotando-se na ficha de análise os respectivos nomes e números por peso da amostra [1].

Depois de caracterizada a natureza do material

inerte, pesa-se tais componentes, anotando-se na ficha de análise o resultado desta pesagem. Conservando-se este material no prato da balança e juntando-se a ele as outras sementes (previamente identificada, contadas e anotadas), faz-se nova pesagem, obtendo-se, assim, o peso total das impurezas, o qual é, por sua vez, anotado na ficha de análise [1].

A pesagem direta das sementes puras depende do tamanho da amostra de trabalho [1]:

- Quando o peso da amostra for inferior a 25 g: as sementes puras são pesadas diretamente. Os cálculos das porcentagens por peso das três determinações (material inerte, total de impurezas e sementes puras), devem ser baseados na soma dos pesos correspondentes ao total de impurezas e sementes puras e não no peso inicial da amostra de trabalho. Essa soma deve, entretanto, ser primeiramente comparada ao peso inicial, a fim de verificar se houve excessiva variação de peso ou outro erro qualquer. Não deve haver mais de 1 % de variação entre o peso inicial e o peso final da amostra de trabalho. Se o ganho ou perda for maior do que 1 % deve-se refazer a análise;
- Quando o peso da amostra for igual ou superior a 25 g: o peso das sementes puras é obtido por diferença, subtraindo-se do peso inicial da amostra de trabalho o peso total de impurezas. As porcentagens do material inerte e total de impurezas devem ser baseadas no peso inicial da amostra e a das sementes puras será obtida subtraindo-se de 100 a porcentagem do total de impurezas.

Exemplo 1. Cálculo da porcentagem da pureza de uma amostra de trabalho com peso inferior a 25 g [4].

Um laboratório recebeu uma amostra média de *Eucalyptus saligna* de 17 g. Após a devida divisão, obteve-se

uma amostra de trabalho de 5,864 g. Passando a efetuar a separação dos componentes, obteve-se os seguintes pesos: material inerte (MI) = 4,603 g; total de impurezas (TI) = 4,968 g; sementes puras (SP) = 0,870 g. Calcular a porcentagem de pureza da amostra.

a) Cálculo do peso final (Pf)

$$Pf = TI + SP$$

$$Pf = 4,968 + 0,87 = 5,838$$

b) Comparação entre peso inicial e peso final da amostra
5,864 - 100%

$$x - 1\%$$

$$5,864 \times 0,01 = 0,05864 (1\%)$$

$$5,864 - 0,05864 = 5,80536 \text{ ou,}$$

$$5,864 - 5,838 = 0,026 \therefore 0,026 < 0,05864$$

Neste exemplo, não houve variação entre o peso inicial e o peso final superior a 1%, podendo-se então calcular as porcentagens de impurezas e pureza.

c) Cálculo da porcentagem total de impurezas

$$5,838 - 100\%$$

$$4,968 - x$$

$$x = 85,1\% \therefore \% \text{ impurezas} = 85,1\%$$

d) Cálculo da porcentagem de pureza

$$\% \text{ pureza} = 100 - 85,1\% = 14,9\% \therefore \% \text{ pureza} = 14,9\%$$

Exemplo 2. Cálculo da porcentagem de pureza de uma amostra de trabalho com peso igual ou superior a 25 g [4].

Um laboratório recebeu uma amostra média de *Pinus caribea* com peso de 115 g. Após a devida divisão, obteve-se uma amostra de trabalho de 52,47 g. Após a separação dos componentes, obtiveram-se os seguintes pesos: material inerte (MI) = 1,25 g e total de impurezas (TI) = 2,18 g. Calcular a porcentagem de pureza da amostra.

a) Cálculo da porcentagem do total de impurezas

$$52,47 - 100\%$$

$$2,18 - x\%$$

$$x = 4,2\% \therefore \% \text{ impurezas} = 4,2\%$$

b) Cálculo da porcentagem de pureza

$$\% \text{ pureza} = 100 - 4,2 = 95,8\% \therefore \% \text{ pureza} = 95,8\%$$

3.5 Apresentação dos resultados

Quanto à apresentação dos resultados desta análise, existem prescrições citadas nas RAS, as quais se encontram enumeradas a seguir [1]:

1. Os resultados do exame de sementes puras, material inerte e total de impurezas devem ser expressos em porcentagem por peso e com uma casa decimal;

2. Quando a amostra em exame apresentar uma mistura de espécies, a palavra “MISTURA” deve aparecer claramente escrita no boletim de análise e cada espécie deve ser citada separadamente, sendo também determinadas as suas porcentagens por peso e com uma casa decimal;

3. No caso de espécies florestais do gênero *Eucalyptus*, cujo resultado é expresso em número de plântulas por peso da amostra, a semente pura não é normalmente determinada;

4. As outras sementes e a natureza do material inerte presente devem ser identificadas tanto quanto possível. O resultado de outras sementes deve ser expresso em número de sementes encontradas por peso da amostra de amostra de trabalho ou por unidade de peso;

5. Quando a porcentagem de alguns componentes for inferior a 0,05, a palavra “TRAÇO” deverá ser registrada;

6. Se o resultado da avaliação de algum dos componentes for nulo, este deverá ser informado como “0,0” no espaço apropriado;

7. Os espaços vazios do boletim devem ser inuti-



lizados com o sinal “- 0 -”;

8. A presença de sementes atacadas por doenças ou insetos deve ser relatada;

9. Quando, por qualquer motivo, forem examinadas menos que 2.500 sementes, na análise de pureza, a seguinte nota deve constar no Boletim de Análise: “O peso da amostra de trabalho foi tomado de acordo com as RAS, mas continha apenas sementes”;

10. Quando duas ou mais análises de pureza são feitas sobre a mesma amostra de trabalho, o resultado final deve ser a média dos resultados obtidos;

11. Todos os resultados parciais devem ser incluídos no cálculo da média, a menos que seja evidente que um ou mais deles sejam incorretos e, nesse caso, tais resultados não serão utilizados no cálculo;

12. O Boletim de Análise não pode conter rasuras.

3.6 Referências

1 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p.

2 FIGLIOLIA, M.B.; OLIVEIRA, E.C.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. Análise de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (coord.) **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p.137-174.

3 MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.

4 SILVA, E.M.N. Análise de pureza. In: RODRIGUES, F.C.M.P. (coord.) **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p.51-59.

Determinação do grau de umidade

Lima Jr., M.J.V., Figliolia, M.B., Piña-Rodrigues, F.C.M.;
Gentil, D.F.O.; Souza, M.M.; Silva, V.S.

4. 1 Introdução

Determinações periódicas do grau de umidade entre a colheita e a comercialização permitem a identificação de problemas que porventura ocorram ao longo das diferentes fases do processamento e possibilitam a adoção de medidas adequadas para a sua solução [5].

Com essa informação, é possível manejar corretamente as sementes utilizando-se, se necessário, práticas adequadas que propiciem sua conservação por maiores períodos, como é o caso de sementes do grupo das ortodoxas que requerem baixo grau de umidade para a manutenção de viabilidade e que apresentam alto conteúdo de umidade na colheita, necessitando de secagem, previamente ao armazenamento.

No caso das ortodoxas, as sementes com alto grau de umidade tendem a perder a viabilidade mais rapidamente se não forem manejadas corretamente. Isto porque, a umidade propicia uma intensificação da atividade respiratória da semente, consumindo suas reservas nutritivas. Como consequência, libera calor tornando o ambiente de



armazenamento propício ao aparecimento de agentes patogênicos [3].

A determinação do grau de umidade é também um critério importante para o estabelecimento de preços. Em alguns casos, a matéria seca pode estar sendo comercializada junto com a água, acarretando maior custo no transporte da semente com maior grau de umidade do que o necessário. No entanto, essa consideração só é válida quando se utiliza embalagens impermeáveis, caso contrário, a tendência é de se estabelecer uma umidade de equilíbrio com o ambiente [7].

A umidade e a temperatura são fatores preponderantes no armazenamento de sementes. A longevidade é prolongada quando a semente é armazenada com baixa umidade e temperatura. Entretanto, essa regra não se aplica as espécies recalcitrantes cujas sementes requerem alto grau de umidade para seu acondicionamento, como é o caso de *Hevea brasiliensis*, *Theobroma cacao*, *Carapa* sp., *Viola surinamensis*, *Inga uruguensis*, *Araucaria angustifolia* e *Euterpe edulis*, entre outras [3].

A água pode se apresentar sob diferentes formas em uma semente [5]:

Água absorvida ou “água livre”: presa ao sistema coloidal por meio de forças capilares, ocupando espaços intercelulares e poros do material.

Água adsorvida: também livre presa ao sistema à atração molecular; sendo retida por adesão de suas moléculas ao material sólido;

Água de constituição e/ou de composição: está unida quimicamente à substância adsorvente ou forma parte integrante dessa substância e só pode ser removida sob condições especiais. A tentativa de sua remoção pelo calor pode provocar volatilização de outras substâncias e acarretar erros nas determinações.

As diferentes formas com que a água se apresenta na semente podem causar dúvidas quanto à determinação correta do grau de umidade, isto é, quanto à eficiência dos métodos para avaliar a presença das diferentes formas de

água nas sementes. No entanto, deve ser ressaltado que, quando se procura determinar o teor de água de uma amostra, não é tão importante o conhecimento da presença desta ou daquela forma de água [5] e sim, assegurar a remoção máxima, tanto quanto possível da água e que não sejam volatilizados outros elementos voláteis que não somente a água .

Os testes são realizados de acordo com as prescrições das RAS, as quais nem sempre são adequadas a determinadas espécies, dadas as grandes variações morfológicas, fisiológicas e na composição química das sementes e/ou unidades de dispersão existentes entre as espécies florestais [6].

As RAS prescrevem o peso mínimo de amostras médias nos métodos de estufa de 100 g para espécies que devem ser moídas e de 50 g para as demais espécies que não necessitam de moagem. Essas quantidades nem sempre são possíveis para grande número de espécies arbóreas com sementes grandes, como o caso de *Dypterix alata*, que possui em média 60 unidades de dispersão (frutos) por quilograma [6].

O objetivo desta análise é determinar o teor de água das sementes por métodos adequados para uso em análise de rotina [1].

4.2 Princípio básico

A determinação do grau de umidade baseia-se na perda de peso das sementes quando secas em estufa. A água contida nas sementes é expelida em forma de vapor pela aplicação do calor sob condições controladas, ao mesmo tempo em que são tomadas precauções para reduzir a oxidação, a decomposição ou a perda de outras substâncias voláteis durante as operações [1].

A redução do peso reflete a perda de água das sementes e, baseado neste princípio, as pesagens realizadas antes e após a secagem fornecem dados para o cálculo do

grau de umidade [1].

4.3 Sementes ortodoxas e recalcitrantes de espécies florestais

O controle do grau de umidade de sementes ortodoxas tem grande importância na colheita e no beneficiamento, na conservação do poder germinativo e do vigor durante o armazenamento, na escolha do tipo de embalagem, no controle de insetos e de microorganismos e do peso durante a comercialização. No caso das sementes recalcitrantes, essa verificação é essencial à manutenção da qualidade fisiológica, principalmente durante a etapa de secagem, até ser atingido o grau de umidade de segurança, abaixo do qual a viabilidade e, ou, ou vigor começam a ser afetados negativamente.

Apesar de estar prescrita nas RAS a amplitude de tolerância máxima de 0,6 a 2,8% para as diferenças entre duas subamostras de trabalho (repetições) de sementes de espécies arbóreas e arbustivas, dentre as quais muitas que apresentam comportamento recalcitrante, os resultados de uma mesma determinação são, geralmente, discrepantes, cujas diferenças ultrapassam esses limites. As causas dessas variações ainda não foram devidamente esclarecidas e comprovadas, muito embora se saiba que o grau de umidade individual de sementes recalcitrantes possa variar consideravelmente e o coeficiente de variação possa ser maior do que o verificado em amostras similares de sementes ortodoxas. Adicionalmente, os métodos para determinação do grau de umidade daquelas sementes foram pouco estudados [4].

A perda de peso das sementes, que ocorre durante a secagem, está relacionada tanto com a temperatura sob a qual está submetida quanto ao período de exposição a essa temperatura. Assim sendo, as RAS prescrevem as temperaturas de 105°C por 24 horas e 103°C por 17 horas, sendo estas as mais utilizadas no Brasil, para as espécies

florestais, com sementes de tamanho grande e para as contidas dentro de frutos indeiscentes, ou 130°C por 1 a 4 horas, sendo esta mais empregada para as grandes culturas. Outro método que vem sendo muito estudado é o de estufa a 70°C até peso constante [4; 6].

4.4 Métodos de estufa

Para que os resultados obtidos nos diversos laboratórios possam ser uniformes e comparáveis entre si há necessidade de se seguir rigorosamente as instruções do método adotado, oficialmente estabelecidos pelas RAS para uso nos laboratórios de análise de sementes do país. Os métodos baseiam-se na perda de peso das sementes quando secas em estufa. É considerado um método preciso, mas alguns fatores podem interferir nos resultados obtidos [5]:

O tamanho da amostra ou erros de amostragem, a temperatura de secagem, o tempo de permanência das sementes na estufa, a precisão pesagens ou erros na pesagem, etc. O procedimento adequado para cada espécie é previamente prescrito e qualquer alteração em uma das instruções pode provocar alterações nos resultados.

A temperatura empregada pode ser suficiente para remover substâncias voláteis juntamente com a água, provocar a decomposição ou a oxidação de outras, e conseqüentemente, variações no peso da amostra; isto ocorre principalmente nos estágios finais da secagem.

A pesagem do material ainda quente provoca alteração no comportamento das balanças de precisão.

Devido às condições de adequação dos laboratórios brasileiros para a condução destes métodos, a determinação em estufa 105°C \pm 3°C por 24 horas foi adotado como oficialmente como método padrão no Brasil, podendo ser utilizado em qualquer espécie, inclusive essências florestais. Os resultados são expressos em porcentagem com base no peso úmido da amostra.

4.4.1 Método de estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 horas [1]

Empregado para todas as espécies e com sementes inteiras;

Regular a temperatura da estufa a 105°C , admitindo-se uma variação $\pm 3^\circ\text{C}$;

Secar os recipientes por 30 minutos em estufa a 105°C ou através de procedimento similar e resfriá-los em dessecador;

Conduzido com duas repetições;

Usar sementes inteiras, qualquer que seja a espécie;

Pesar o recipiente e sua tampa, devidamente identificados, em balança com sensibilidade de 0,001g, anotando-se os resultados (peso da tara = T);

Distribuir uniformemente as amostras nos recipientes;

Pesar novamente os recipientes contendo as sementes, juntamente com as respectivas tampas, obtendo-se o peso bruto das sementes úmidas (Pu);

Colocar os recipientes na estufa 105°C , sobre as respectivas tampas;

Iniciar a contagem do tempo de secagem somente depois da temperatura retornar a 105°C .

Manter as amostras na estufa durante 24 horas;

Retirar as amostras da estufa após o período de secagem, tampar rapidamente os recipientes e colocá-los em dessecador até esfriar e pesar, obtendo-se o peso bruto das sementes secas (Ps);

Utilizar como dessecantes sílica gel, pentóxido de fósforo, alumina ativada ou peneira molecular 4A, pelotas 1,5mm;

Quando, durante a determinação da umidade em certas espécies, houver risco de algumas serem jogadas fora do recipiente, pela ação do calor, este deve ser cobrindo com tela de material não corrosível.

4.4.2 Método de estufa a baixa temperatura 101-105°C por 17 horas [1]

Esse método é o mais indicado para as espécies flo-

restais, sendo considerado seguro para aquelas que contenham substâncias voláteis. É o método básico de referência para introdução de novas espécies e métodos adotados pelas Regras Internacionais de Análise de Sementes da International Seed Testing Association- ISTA.

O procedimento deste método é o mesmo do método anterior exceto:

A temperatura da estufa deve ser mantida a $103 \pm 2^\circ\text{C}$;

O período de permanência das amostras na estufa deve ser de 17 ± 1 hora.

4.5 Procedimentos

4.5.1 Amostragem

A amostra deve ser retirada de diferentes locais de um lote, para que possa representá-lo fielmente. Imediatamente após sua obtenção, deve ser acondicionada em recipiente intacto à prova de umidade (hermeticamente fechado) e do qual tenha se extraído o ar, tanto quanto possível. A utilização de embalagem permeável acarretará alterações no grau de umidade durante o período compreendido entre a sua retirada e a análise, o que não é correto. Essa amostra é enviada ao laboratório separada das destinadas às demais determinações [1].

A determinação deve ser iniciada o mais rápido possível após o recebimento, observando-se que a temperatura da amostra esteja em equilíbrio com a temperatura do ambiente.

Durante a determinação, a exposição da amostra ao ambiente do laboratório deve ser reduzida ao mínimo e para espécies que não necessitam de moagem não mais que dois minutos devem separar a remoção da amostra do recipiente em que foi enviada até a colocação da amostra de trabalho no recipiente de secagem e, para as sementes moídas, 30 segundos. Além disso, devem ser preservadas de altas temperaturas para reduzir a possibi-

lidade de alterações causadas pela respiração das sementes [1].

4.5.2 Pesos das amostras

O peso mínimo das amostras médias, nos métodos de estufa, é de 100 g para as espécies que devem ser moídas (sementes grandes) e 50 g para as espécies que serão usadas inteiras [1].

No caso de sementes pequenas e/ou caras é permitido enviar amostras médias menores, tendo no mínimo o peso suficiente para a realização dos testes solicitados. Deve ser feita a seguinte declaração e esta deverá constar no campo “Observações” do Boletim de Análise de Sementes: “ A amostra média pesou ...g” [1].

Antes da retirada das amostras de trabalho, a amostra média deve ser cuidadosa e rapidamente homogeneizada, reduzindo-se ao máximo a exposição das sementes ao ambiente, podendo ser feita da seguinte forma [1]:

Misturar a amostra em seu recipiente com uma colher, ou;

Colocar a abertura do recipiente original contra a abertura de um recipiente similar e despejar a semente de um para o outro.

Devem ser retiradas, no mínimo, três porções de diferentes pontos e combinados para formar a amostra de trabalho de tamanho requerido;

O peso da amostra deverá ser anotado em espaço específico no boletim de análise. Os recipientes devem ser abertos no momento do início do teste. Essas precauções são necessárias a fim de que o grau de umidade das sementes se conserve praticamente inalterado até a ocasião da sua determinação em laboratório.

A determinação deve ser realizada em duplicata, isto é, com duas amostras de trabalho, sendo estas retiradas independentemente da amostra média, colocadas em recipientes secos, com tampa e previamente pesados [1].

Para os métodos de estufa, o peso requerido dependerá do diâmetro do recipiente usado (Tabela 1).

Tabela 1. *Peso da amostra de trabalho requerido de acordo com o diâmetro do recipiente.*

Diâmetro do recipiente (cm)	Peso da amostra de trabalho (g)
5-8	4, 5 ± 0,5
≥ 8	10,0 ± 1,0

Fonte: Brasil (2009).

Para sementes grandes de espécies florestais que necessitam de corte, um tamanho diferente de amostra de trabalho pode ser necessário. Para sementes cortadas, a amostra deve ser de tamanho suficiente para a retirada de duas repetições, onde cada uma tenha peso aproximado de cinco sementes intactas.

A pesagem das amostras de trabalho ou sub-amostras a serem utilizadas e a respectiva anotação desses pesos são suficientes para que se considere cumprida a recomendação de um início imediato do teste. Uma vez registrados os pesos iniciais das amostras, qualquer alteração que posteriormente venha a ocorrer na umidade das sementes não terá, em curto prazo, maior influência sobre os resultados [1].

4.5.3 Moagem

A moagem ou de corte é recomendada para sementes grandes (equivalentes a menos de 5.000 unidades por quilograma de sementes puras ou ao peso individual superior a 0,2 g) de espécies arbóreas e arbustivas, e para sementes com tegumento que impedem a perda de água, a menos que seu conteúdo em óleo torne difícil esta operação ou sujeitas a ganhar peso pela oxidação do material moído. Essa preparação visa assegurar que as amostras sequem mais rápida e uniformemente do que se fossem constituídas por sementes inteiras. A moagem deve ser feita numa porção da amostra média, antes da obtenção das duas amostras [1].

As sementes de leguminosas e espécies florestais exigem uma textura mais grossa, no mínimo, 50% do ma-

terial moído deve passar através de peneira de malha de 4,00 mm, e não mais do que 55% deve passar através de uma peneira com abertura de 2.00mm. O moinho deve ser ajustado para se obter partículas do tamanho requerido [1].

Para estabelecer a textura indicada, uma pequena quantidade da amostra é moída e a seguir rejeitada. Uma vez estabelecida à textura requerida, tritura-se uma quantidade ligeiramente superior à exigida para o teste. O tempo total do processo de moagem não deve exceder a dois minutos [1].

4.5.4 Corte

O corte é indicado quando não for possível realizar a moagem, sendo recomendado para as sementes grandes de espécies florestais (peso de mil sementes > 200g) e sementes com tegumento muito duro, como de Fabaceae (Leguminosae), e/ou sementes com alto teor de óleo. Devem ser cortados em pequenos pedaços, menores do que 7,0mm.

O corte deve ser realizado em duas amostras, cada uma de peso aproximado ao de cinco sementes intactas, retirada da amostra média.

As amostras devem ser rapidamente cortadas, recombinadas e misturadas com uma colher, antes de serem retiradas as duas repetições, as quais devem ser colocadas em recipientes previamente pesados. A exposição da amostra ao ambiente não deve ser superior a quatro minutos.

4.5.5 Pré-secagem

Deve-se realizar a pré-secagem nos testes com moagem, em sementes com grau de umidade acima de 17%. Sementes de espécies que apresentam dificuldade de moagem deverão sofrer também pré-secagem, mesmo quando mais secas do que 17% [1].

Retiram-se da amostra média duas amostras, cada uma com o peso suficiente para atingir, depois de pré-secas, o peso mínimo indicado nas RAS. Essas amostras

são pesadas e colocadas em recipientes de peso previamente conhecidas e secas para reduzir o grau de umidade a um valor que permita a moagem satisfatória [1].

Depois de pré-secas as amostras são repesadas em seus recipientes para determinar a perda de peso e a seguir são moídas separadamente e o material sujeito aos procedimentos prescritos no subitem 4.4 (Métodos em estufa) [1].

Exceto para o caso descrito a seguir, as amostras, dependendo do grau umidade, devem ser pré-secas em uma estufa de temperatura constante de 130°C por 5 a 10 minutos, e depois, expostas ao ambiente do laboratório por aproximadamente duas horas [1].

Para o caso de espécies com grau de umidade acima de 30%, as amostras devem ser secas durante o período de 12 horas, sobre uma estufa aquecida [1].

A pré-secagem não é obrigatória para as sementes de espécies florestais em que o corte é indicado.

4.6 Equipamentos

Para determinação do grau de umidade são necessários [5]:

Estufa dotada de sistema elétrico de aquecimento, controle termostático, isolamento eficiente, com temperatura uniforme em todo o seu interior e a temperatura especificada ao nível da prateleira, equipada com prateleiras removíveis, perfuradas onde são colocados os recipientes que contem amostras e, com sistema de circulação de ar forçado. A capacidade de aquecimento deve ser tal que após o pré-aquecimento à temperatura requerida, seguido pela abertura e colocação dos recipientes, a estufa alcance a temperatura indicada em até 30 minutos;

Balança de pesagem rápida e com precisão de 0,001g;

Recipientes de metal não corrosível ou de vidro com aproximadamente 0,5mm de espessura, com tampa

bem ajustada, para evitar trocas de vapor d'água das seções com o ar exterior durante a preparação e as pesagens; tanto o recipiente como a sua tampa devem ser identificados com o mesmo número e mantidos limpos e secos e, quando necessário, seque-os por 30 minutos a 105°C, ou por procedimento similar e resfrie-os em dessecador. Os recipientes devem ter capacidade efetiva para que a amostra de trabalho seja distribuída de modo a não ultrapassar 0,3g/cm²;

Dessecadores com suporte de metal espesso ou porcelana, contendo sílica-gel, cloreto de cálcio, pentóxido de fósforo ou alumina ativa; usados como desidratante. A sílica-gel é mais utilizada; quando seca tem coloração azul e, quando úmida, rosa;

Bandejas, luvas, termômetros escala de 0,1 de intervalo, pinças, ferramentas de corte como bisturi, tesoura de poda, alicate, ou qualquer outro instrumento de corte adequado;

Moinho ajustável, de material não corrosivo e que não absorva água, ser de fácil limpeza, permitir que a moagem seja executada de forma rápida e uniforme, sem o desenvolvimento de calor e, tanto quanto possível, sem contato com o ambiente externo ; ser ajustável, de maneira a obter as partículas das dimensões indicadas;

Peneiras de arame não corrosivo, com abertura de malhas 0,50mm; 1,00mm; 2,00mm e 4,00 mm ;
Boletim de Análise específico.

4.7 Cálculo para Determinação do Grau de Umidade

O grau de umidade é calculado através da seguinte expressão e expresso em porcentagem [1]:

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

onde:

P = peso inicial, peso do recipiente e sua tampa mais o peso da semente úmida;

p = peso inicial, peso do recipiente e sua tampa mais o peso da semente seca;

t = tara, peso do recipiente com sua tampa.

A pesagem deve ser em gramas, com três casas decimais. O resultado final é obtido através da média aritmética das porcentagens de cada uma das repetições retiradas da amostra de trabalho[1].

A aproximação dos resultados, quando necessária, deve ser feita depois de calculada a média das repetições. Toda fração inferior a 0,05 deve ser desprezada. O resultado dessa determinação deve ser informado no campo destinado a “Outras Determinações” do Boletim de Análise de Sementes em porcentagem e com uma casa decimal[1].

Os resultados também podem ser expressos em relação ao peso das sementes secas[1]:

$$\%U_{(bs)} = \frac{Pu - Ps}{Ps - T} \times 100$$

Para a conversão dos valores de uma base para a outra, utiliza-se as seguintes expressões[5]:

$$U_{(bu)} = \frac{U_{(bs)}}{100 + U_{(bs)}} \quad U_{(bs)} = \frac{U_{(bu)}}{100 + U_{(bu)}}$$

onde:

$U_{(bu)}$ = porcentagem de água calculada em função do peso das sementes úmidas e

$U_{(bs)}$ = porcentagem em função do peso das sementes secas.



4.8 Tolerâncias

A diferença entre os resultados das duas amostras (repetições), não deve exceder de 0,5%. Se essa diferença for maior, a determinação deve ser repetida com outras amostras de trabalho, novamente coletas para este fim. Se as repetições desta segunda determinação também estiverem fora da tolerância, verifique se a média dos resultados dos dois testes está dentro da tolerância de 0,5%. Se estiver, informe o resultado médio [1].

Para sementes de espécies florestais e arbustivas, onde a variação normalmente excede 0,5%, a amplitude de 0,3% a 2,5% é permitida e relacionada ao tamanho da semente e ao grau de umidade inicial (Tabela 2). Essa tabela fornece as diferenças máximas toleradas entre os resultados de duas repetições. É usada de acordo com a média inicial do grau de umidade da amostra e a diferença tolerada para cada tamanho da semente [1].

Tabela 2. Níveis de Tolerância para diferenças entre as repetições na determinação do grau de umidade em sementes florestais e arbustivas.

Classe	Tamanho da semente Números de sementes puras/kg	Grau de umidade (%)	Tolerância (%)
Sementes pequenas	> 5000	< 12	0,6
Sementes pequenas	> 5000	> 12	0,8
Sementes grandes	< 5000	< 12	0,7
Sementes grandes	< 5000	12-25	1,1
Sementes grandes	< 5000	> 25	2,8

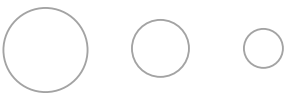
Tamanho da semente	Média do grau de umidade (%)		> 25
	< 12	12 a 25	
Sementes pequenas *	0,3	0,5	0,6
Sementes pequenas**	0,4	0,8	2,,8

* Sementes pequenas são aquelas com um tamanho tal que o peso de mil sementes é menor do que 200g

** *Sementes grandes são aquelas com um tamanho tal que o peso de mil sementes é maior do que 200g*
Fonte: BONNER, F.T. (1984).

4.9 Referências

- 1 BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: 2009. 365p.
- 2 BONNER, F.T. Tolerance limits in measurement of tree moisture. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.12, p.789-794, 1984.
- 3 FIGLIOLIA, M.B.; OLIVEIRA, E.C; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. Análise de Pureza. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (coord.) **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p.145-148.
- 4 GENTIL, D.F.O.; FERREIRA, S.A.N. Preparação das subsamostras, temperatura e período de secagem na determinação do grau de umidade de sementes de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh). **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 24, no 2, p.62-69, 2002.
- 5 MARCOS FILHO, J; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.
- 6 PIÑA-RODRIGUES, F.C.M; FIGLIOLIA, M.B.; PEIXOTO, M.C. Teste de Qualidade In: BORGUETTI, et al. (orgs.), **Germinação do básico ao aplicado**. São Paulo, Ed. ARTMED, 2004.
- 7 SILVA, E.M.N, Determinação de Umidade. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.(coord.) **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p.61-69



Teste de germinação

Ferraz, I.D.K., Calvi, G.P.

5.1 Introdução

Normalmente, é fácil distinguir entre uma planta viva ou morta. Entretanto, esse não é o caso em sementes. Para avaliar a vida das sementes existem procedimentos específicos: o *teste direto* avalia a germinabilidade das sementes e os *testes indiretos* avaliam a viabilidade das mesmas. Em geral, deve ser dada sempre preferência a um teste direto de germinação. Porém, às vezes este teste pode ser impraticável; neste caso, um dos testes indiretos pode ser aplicado.

Precisa-se ter em mente que um teste de germinação no laboratório deve refletir o potencial máximo de germinação de um lote de sementes sob condições ambientais ideais. Portanto, o resultado nem sempre reflete a emergência no viveiro ou é uma previsão do resultado no viveiro. Em geral, um teste de germinação no laboratório é uma superestimação do resultado no viveiro e um teste de viabilidade é uma superestimação do resultado do teste de germinação.

Os resultados de um teste de germinação devem



ser independentes da pessoa de execução e devem ter replicabilidade, ou seja, um teste subsequente, do mesmo lote de sementes, deve dar o mesmo resultado, dentro de limites estatisticamente definidos. Para tal, há a necessidade de adoção de procedimentos padronizados que são as Regras para Análises de Sementes (RAS) [18]. O uso de RAS, aplicando a mesma metodologia em diferentes laboratórios, é fundamental para a avaliação da qualidade de um lote de sementes para fins comerciais. O teste deve refletir a qualidade das sementes e não a qualidade das condições do teste. Assim, as condições do teste devem corresponder às exigências das sementes em termos das condições ambientais como temperatura, substrato, umidade e luz.

Visando subsidiar o comércio de sementes para a propagação das espécies, o teste de germinação avalia a aptidão das sementes de formar uma plântula normal sob condições favoráveis de campo. A análise permite ao produtor estimar a quantidade de sementes necessária para a semeadura e avaliar o investimento econômico pela comparação de lotes de sementes, com diferenças na qualidade.

A validade dos resultados dos testes de germinação é, às vezes, questionada, pois, no laboratório, as condições são controladas, a fim de possibilitar a máxima capacidade germinativa das sementes. Como mencionado acima, a germinação no laboratório nem sempre é igual ao desempenho no campo, onde as condições ambientais não são controladas e, às vezes, adversas ao processo de germinação e desenvolvimento do vegetal. No entanto, as discrepâncias entre os resultados do laboratório e campo podem ser reduzidas, quando as sementes apresentam alto vigor.

As RAS apresentam as especificações para a germinação de 276 espécies florestais e arbustivas. Muitas não são nativas no Brasil ou na América do Sul, são originárias da América do Norte, Europa, África ou Austrália, como *Pinus*, *Eucalyptus*, *Tectona*, *Alnus*, etc. Frente à alta biodiversidade das florestas neotropicais, este número é

muito pequeno. Porém, para que uma nova espécie possa ser incluída nas RAS há um longo protocolo a ser seguido.

Os resultados científicos devem ser confirmados com sementes de várias procedências e diferenças no vigor; em seguida, a metodologia selecionada deve ser validada entre os laboratórios credenciados, antes que as recomendações possam ser incluídas nas RAS. Os estudos na tecnologia de sementes das espécies florestais nativas são ainda muito incipientes, em comparação aos das espécies de importância agrícola, que já foram estudadas e domesticadas por décadas ou até séculos.

Seguem alguns pontos que são particulares às espécies florestais, diferenciando-as das espécies agrícolas.

A diversidade de espécies arbóreas é muito alta. Não se conhece o número exato de espécies florestais no Brasil. Estima-se que somente na região amazônica existem num total entre 4.000 a 5.000 espécies de árvores [66]. Somente em uma área de 500 ha foram identificadas 1.077 espécies de árvores nas proximidades de Manaus [65]. Em outros 70 ha, na mesma região, foram registradas 698 espécies arbóreas com DAP igual ou acima de 10 cm [64]. Devido a esta alta diversidade, existem poucas informações sobre cada espécie. Um dos maiores problemas é, ainda, a correta identificação botânica das árvores. Às vezes os frutos, sementes e mudas nem foram ainda adequadamente descritos. A produção de sementes de muitas árvores é irregular e não anual. Muitas espécies apresentam sementes grandes e sensíveis ao dessecamento (recalcitrante) [24]. As sementes de espécies florestais podem apresentar estruturas específicas de proteção e/ou dispersão que podem dificultar a coleta e aumentar o tempo de germinação. As árvores têm um ciclo de vida longo (décadas e até centenas de anos) e podem demorar anos até a primeira frutificação. Desta forma, a produção em número de sementes é geralmente pequeno e, conseqüentemente, o lote das sementes. Dentro das espécies nativas, existem espécies raras e/ou ameaçadas de extinção que exigem procedimentos diferenciados, devido o

alto valor ecológico das sementes.

Assim, nem todos os procedimentos geralmente aplicados às sementes agrícolas podem ser transferidos diretamente às espécies florestais. Neste capítulo, os procedimentos mais importantes para a avaliação da germinação das sementes florestais foram extraídos das RAS. Quando considerado oportuno, os procedimentos foram comentados e ilustrados com exemplos disponíveis, na maioria das vezes de espécies florestais da Amazônia. O intuito dos autores foi facilitar a aplicação das RAS para iniciantes em avaliação de sementes florestais. Desta forma, este capítulo se entende como um complemento às RAS e não dispensa sua consulta.

5.2 DEFINIÇÕES

As RAS apresentam definições básicas de termos utilizados para os testes de germinação, entende-se por:

5.2.1. Germinação: a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma planta normal sob condições favoráveis de campo.

5.2.2. Porcentagem de germinação: corresponde à proporção do número de sementes que produziu plântulas classificadas como normais obtidas sob as condições e períodos especificados para cada espécie.

5.2.3. Estruturas essenciais: São estruturas que permitirão que uma plântula possa continuar seu desenvolvimento até tornar-se uma planta normal. Nestas, são consideradas a avaliação do sistema radicular (raízes primária, secundárias e, em alguns gêneros, raízes semi-

nais) e da parte aérea (hipocótilo e/ou epicótilo, cotilédones, primeiras folhas e gema terminal). O detalhamento da avaliação do sistema radicular e da parte aérea varia para os diferentes tipos de germinação. Geralmente, é avaliada a plântula como toda e, em seguida, cada estrutura. Uma breve discussão sobre tipos de germinação encontram-se neste capítulo no item 5.5.

5.2.4. Plântulas normais: são aquelas que apresentam potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais, quando desenvolvidas sob condições favoráveis. Para serem classificadas como normais, as plântulas devem estar de acordo com uma das seguintes categorias:

Plântulas intactas – devem apresentar todas as suas estruturas essenciais bem desenvolvidas, completas, proporcionais e saudáveis. Dependendo da espécie podem ser encontradas diferentes combinações das estruturas essenciais.

Plântulas com pequenos defeitos – podem ser incluídas nas plântulas normais, desde que mostrem um desenvolvimento satisfatório e equilibrado, quando comparadas com uma plântula intacta do mesmo teste. Entende-se por pequenos defeitos:

a) No sistema radicular: raiz primária com dano limitado ou com pequeno retardamento no crescimento; raiz primária deficiente, mas com raízes secundárias suficientemente bem desenvolvidas;

b) Nas estruturas aéreas: hipocótilo, epicótilo ou mesocótilo com danos limitados; cotilédones e primeiras folhas com danos limitados - metade ou mais da área total do tecido deve funcionar normalmente (regra dos 50 %); folhas primárias com tamanho reduzido a, no mínimo, um quarto do tamanho normal.

Plântulas com infecção secundária – podem ser incluídas nas plântulas normais mesmo quando seriamente deterioradas devido à presença de fungos ou bactérias, se ficar evidente que a própria semente não é a fonte da in-

fecção e se é possível verificar que todas as estruturas essenciais estão presentes.

A morfologia da plântula deve ser bem conhecida para definir qual estrutura é essencial ou não. Várias plântulas de espécies florestais mostram alta taxa de regeneração, mesmo quando danificadas; por exemplo, em *Eugenia stipitata* com germinação hipógea (H-C-R), quando há ferimento do meristema apical, observa-se alta regeneração do eixo nas axilas dos cotilédones e catáfilos.

A relação entre a parte aérea e a raiz pode variar, dependendo da espécie, tornando-se difícil julgar um desenvolvimento equilibrado sem conhecer as características da espécie; por exemplo, *Schizolobium amazonicum* apresenta um crescimento da raiz muito reduzido em comparação da parte aérea. Difícil também é julgar até que estágio do desenvolvimento as plântulas devem ser acompanhadas para avaliar o desenvolvimento normal; por exemplo, em *Hevea guianensis*, o epicótilo pode apresentar entre 14 a 29 cm, antes da primeira folha.

5.2.5. Plântulas anormais: são aquelas que não mostram potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais, mesmo crescendo em condições favoráveis. As plântulas anormais podem ser classificadas em:

Plântulas danificadas – apresentam qualquer uma das suas estruturas essenciais ausentes ou tão danificadas que não possa ocorrer desenvolvimento proporcional;
Plântulas deformadas – apresentam desenvolvimento fraco, com distúrbios fisiológicos, ou com estruturas essenciais deformadas ou desproporcionais;

Plântulas deterioradas – apresentam quaisquer uma de suas estruturas essenciais infectadas ou deterioradas, como resultado de uma infecção primária (originada da própria semente).

Nas RAS pode ser encontrada uma série de características que definem a anormalidade de uma plântula, dentre as quais pode ser citadas:

- a) sistema radicular atrofiado, ausente, retorcido, desproporcional em relação às outras estruturas, preso dentro do tegumento, com geotropismo negativo;
- b) parte aérea deformada, quebrada, ausente, deteriorada devido a uma infecção primária.

Nas avaliações da germinação, devem ser consideradas anomalias causadas pelo método de germinação como, por exemplo, raiz com crescimento horizontal, devido a germinação sobre papel; eixo curvado, causado pela altura da caixa de germinação; estiolamento, devido a insuficiência de luz, entre outras.

No ponto de vista dos autores, os métodos de germinação são limitados, principalmente para sementes grandes, pois estas necessitam maior espaço, dificultando um desenvolvimento normal no laboratório. Uma série de deficiências físicas das plântulas em espécies agrícolas pode ser causada pela colheita e processamento mecânico das sementes ou por ação de defensivos agrícolas. A frequência destes danos deve ser bastante reduzida em espécies florestais nativas, pois estas sementes são, geralmente, coletadas e processadas ainda de maneira manual. Além disso, anormalidades na fase de plântulas em espécies agrícolas, que possuem ciclo de vida curto, podem comprometer o seu desenvolvimento. Desta forma, vale uma reflexão se estes mesmos defeitos podem prejudicar o desenvolvimento de espécies florestais que teriam anos e décadas para se recuperar de um dano nos cotilédones ou nas primeiras folhas. Considera-se mais importante na avaliação de espécies florestais, a observação da integridade dos meristemas (apical e radicular) e do eixo que possibilite o desenvolvimento.

5.2.6. Unidade - sementes múltiplas: são sementes que podem produzir mais que uma plântula no teste de germinação. É uma característica da espécie e pode ocorrer quando:

- a) a unidade de semeadura contém mais que uma semente verdadeira;

b) uma semente verdadeira contém mais que um embrião;

c) os embriões estão unidos.

Para efeito do teste de germinação, quando uma semente produz mais que uma plântula normal, somente uma plântula é contada para a determinação da porcentagem de germinação. Caso haja interesse, pode-se determinar o número de plântulas formadas por cem unidades ou o número de sementes que produziram uma, duas ou mais plântulas normais.

Há uma série de espécies florestais que contêm mais que uma semente verdadeira na unidade de semeadura, como por exemplo *Byrsonima chrysophylla* (murici [20]. Mais que um embrião foi observado em sementes de *Iryanthera juruensis* (ucubarana-punã [20]. *Carapa procera* (andirobinha) geralmente apresenta sementes poliembriônicas, nunca observado em *C. guianensis* (andiroba) [24]. Algumas sementes quando cortadas em duas ou mais partes, podem produzir uma plântula normal de cada um das frações, como por exemplo, *Eugenia stipitata* [9]. Outras podem produzir caules secundários nas axilas dos cotilédones, principalmente quando um desenvolvimento normal é impedido devido falta de espaço vertical no germinador, sendo mais frequente em plântulas com germinação hipógea, como por exemplo, *Carapa guianensis*. Estes caules não devem ser confundidos com plântulas de sementes múltiplas, pois apresentam somente uma raiz para várias partes aéreas.

5.2.7. Sementes não germinadas: são as sementes que, no final do teste de germinação, não germinaram devido a diferentes causas. Podem ser classificadas como:

Sementes duras – não absorvem água e não intumescem e, no final do teste de germinação, continuam duras como no início. Esse fenômeno é causado pela impermeabilidade do tegumento à água, sendo considerado um tipo de dormência.

Ao verificar a presença de sementes duras no final

do teste de germinação, elas devem ser contadas, anotadas na ficha de germinação e permanecer no substrato por um período adicional de até sete dias, juntamente com as sementes que, nessa ocasião, ainda se encontrem somente intumescidas e/ou em estado inicial de germinação. As plântulas normais encontradas no fim do período adicional são incluídas na porcentagem de germinação, e as sementes que permaneceram duras são informadas separadamente.

Quando requerido pelo interessado, o laboratório poderá aplicar um tratamento específico para superar a dormência das sementes. Neste caso, são conduzidos testes com e sem pré-tratamento com a mesma amostra, e os resultados são indicados no Boletim de Análise.

Sementes dormentes – embora aparentemente viáveis, não germinam, mesmo quando colocadas nas condições especificadas para a espécie em teste. Podem ser capazes de absorver água e intumescer, mas não germinam e nem apodrecem até o final do teste.

É importante ressaltar que nem todas as sementes classificadas como dormentes ao final do teste de germinação são viáveis. A viabilidade dessas sementes pode ser verificada por testes indiretos. O mais comum é a coloração com tetrazólio, pois somente tecidos vivos se tornam vermelhos. Os tecidos mortos continuam na cor original geralmente branco ou marrom. As RAS possuem um capítulo especialmente para detalhar os procedimentos para o teste de tetrazólio.

Portanto, as RAS distinguem as sementes com dormência devido a impermeabilidade do tegumento (chamadas sementes duras) das sementes com outros tipos de dormência (chamadas sementes dormentes). Esta diferenciação é baseada na praticidade, pois, quando as sementes apresentam outros tipos de dormência há uma gama de possibilidades para sua superação. Nas RAS são listadas, além das recomendações para o teste de germinação, como temperatura, substrato e período para primeira contagem e contagem final, in-

struções específicas para a superação da dormência para todas as espécies listadas.

Sementes mortas – não germinaram, não estão duras, nem dormentes e, ao final do teste, geralmente apresentam-se amolecidas e atacadas por microrganismos.

Outras categorias de sementes não germinadas – podem ser sementes vazias, sementes sem embrião ou sementes danificadas por insetos.

5.3. EQUIPAMENTOS PARA GERMINAÇÃO

As RAS não determinam quais os tipos de equipamentos devem ser usados durante os testes de germinação, a escolha depende da estrutura do laboratório. Porém, para que os resultados reflitam o potencial máximo de germinação das sementes, as condições ambientais devem ser mantidas, durante o teste, o mais próximo do ótimo possível. Para tal, é necessário o uso de equipamentos adequados, em bom estado de conservação e funcionamento.

As RAS descrevem como equipamentos para os testes de germinação, apenas germinadores e contadores de sementes para a semeadura. Os germinadores são bastante variáveis quanto ao tamanho, sistema empregado para a acomodação das amostras, dispositivos para o controle de temperatura, luz, umidade relativa do ar interno e de outros detalhes. Os germinadores mais usados se enquadram em um dos tipos a seguir:

Câmara de germinação (germinador) – consiste, em linhas gerais, de uma câmara com paredes duplas, adequadamente isoladas a fim de diminuir as variações internas de temperatura, e, são equipados com um conjunto de bandejas onde as amostras podem ser colocadas para germinar.

Existem germinadores de câmara mais simples que possuem apenas o aquecimento, assim somente tempe-

raturas iguais ou superior a do ambiente podem ser reguladas. Modelos mais modernos possibilitam também a refrigeração; desta forma, a temperatura pode ser ajustada abaixo da do ambiente. As RAS prescrevem que a variação de temperatura no interior do equipamento não deve ser maior que ± 2 °C, em cada período de 24 horas.

Hoje em dia, muitos equipamentos possuem um timer para programar o fotoperíodo (período de luz e escuro) e um timer para programar o termoperíodo (alternância de temperatura) simulando as condições naturais. Na programação, deve-se observar que a temperatura baixa sempre coincida com o período escuro e a temperatura alta com o de luz. Quando a luz for indicada para o teste de germinação, deve-se oferecer, no mínimo, 8 horas de luz. Nos casos de espécies que exigem testes de germinação em temperaturas alternadas, e, se o equipamento disponível não for capaz de proporcionar tais condições, as amostras devem ser transferidas diariamente de um germinador para outro, regulados a temperaturas diferentes, para conseguir o termoperíodo.

Existem equipamentos que permitem o controle da umidade no interior da câmara. Caso o modelo empregado não tenha esta função, pode ser necessário que os substratos, contendo as sementes, sejam envolvidos por materiais resistentes a troca do vapor d'água ou mantidas em recipientes para evitar dessecação excessiva.

Sala de germinação – os princípios de construção e funcionamento são semelhantes ao de câmara de germinação, porém é suficientemente grande para permitir a entrada de pessoas. As amostras são colocadas em prateleiras laterais ou sobre carrinhos. Devem ser instalados ventiladores para reduzir a possibilidade de estratificação da temperatura, bem como umidificadores para manter um alto grau de umidade relativa, quando os testes não forem colocados em recipientes à prova de umidade.

Combinação de câmaras e salas de germinação – a sala, construída com isolamento térmico, é mantida, por

meio de um sistema de refrigeração, a uma temperatura constante. Nesta são colocados germinadores tipo simples, dotados apenas com aquecimento e regulados individualmente à temperatura desejada. A temperatura da sala deve corresponder a mais baixa usada nos testes de germinação. Tanto temperaturas constantes como alteradas podem ser obtidas com esta combinação.

Contador de sementes - possibilita a contagem das sementes para a instalação dos testes de germinação. Os contadores depositam as sementes acima do substrato de forma uniforme e equidistante. Os equipamentos possuem placas perfuradas e podem ser acoplados a um sistema de sucção (contadores a vácuo), com o qual as sementes são sugadas nas perfurações. Assim, pode-se fazer a semeadura de milhares de sementes em pouco tempo, sem a necessidade de contá-las individualmente. Maiores detalhes dos contadores de sementes podem ser obtidos nas RAS.

As RAS prescrevem que, sempre que possível, devem ser utilizadas contadores de sementes, para facilitar a operação e garantir a seleção ao acaso das sementes. Entretanto, devido à grande biodiversidade e grande variação em tamanho e forma, é necessário a criação de “modelos exclusivos” para a maioria das espécies. Outro assim, o uso de contadores de sementes é inviável para espécies com grande variação no tamanho e em sementes muito grandes. Por exemplo, *Lecythis barnebyi* possui sementes com comprimento médio de 3,8 cm variando de 2,3 a 8,8 cm [20]; *Scleronema micranthum* tem sementes com massa média de 89 g, variando de 31 a 220g (outros exemplos podem ser encontradas na Tabela 5.1).

5.3.1. Condições sanitárias dos materiais e equipamentos

O resultado do teste de germinação deve refletir a qualidade das sementes submetidas; desta forma, a germinação não pode ser influenciada negativamente por fatores externos, incluindo a contaminação com fungos e

bactérias. Assim, todos os utensílios usados nos testes de germinação devem ser conservados limpos e os substratos, depois de esterilizados ou descontaminados, devem ser acondicionados em locais secos e protegidos de pó. Os utensílios reutilizáveis, como as placas de petri, caixas plásticas, gerbox e recipientes de alumínio devem ser cuidadosamente lavados com água e sabão e secados após o uso.

Os germinadores devem merecer especial atenção, devendo ser lavados com água e sabão e desinfetados periodicamente. A desinfestação pode ser feita com álcool a 70%, “Lysoform”, paraformol, glutaraldeído e outros, cada um deles empregado na dosagem recomendada na embalagem.

Também deve ser levada em consideração a condição sanitária das sementes utilizadas no teste. Embora as RAS não recomendem nenhum tratamento antifúngico específico, quando um fungicida for usado, o nome do produto químico, a porcentagem de ingrediente(s) ativo(s) e sua(s) dosagem(ns) deverá(ão) ser informado(s) no Boletim de Análise de Sementes.

Rotineiramente, em algumas espécies florestais é feita a assepsia das sementes com solução comercial de NaClO (hipoclorito de sódio) a 1 ou 2%. Para tal, 1 mL ou 2 mL, respectivamente, da solução comercial de hipoclorito de sódio são dissolvidos em 100 mL de água. As sementes, depois de imergidas na solução, são agitadas cuidadosamente e deixadas em repouso por dois minutos. Em seguida, utiliza-se uma peneira para lavar as sementes em água corrente e por último enxágue com água destilada. As sementes são dispostas sobre papel absorvente para secagem. A assepsia com hipoclorito de sódio pode causar efeitos negativos na germinação, principalmente quando aplicada em concentrações maiores. Portanto, recomenda-se somente o uso deste produto após avaliação prévia.

5.4. INSTALAÇÃO DO TESTE DE GERMINAÇÃO

Como princípio básico, os testes de germinação devem ser conduzidos sob condições ideais de temperatura, luz e umidade, de modo a possibilitar uma germinação uniforme, rápida e completa da amostra de sementes da espécie em questão, e possibilitar o desenvolvimento das plântulas até que possam ser classificadas como normais ou anormais. Os testes devem ser padronizados para que os resultados de um mesmo lote possam ser reproduzidos e comparados entre laboratórios, dentro dos limites tolerados pelas RAS (ver tabelas de tolerância). Nas RAS encontra-se uma longa listagem, que ocupa mais que 40 páginas, com instruções para a execução dos testes de germinação das sementes listadas.

5.4.1. Amostra de trabalho e tolerâncias dentro e entre testes

As sementes utilizadas no teste de germinação devem ser tomadas, ao acaso, da porção de “Semente pura” da análise de pureza. O restante da amostra deve ser conservado até o final do teste, para eventual necessidade de repetição.

As RAS exigem o uso de 400 sementes para a realização do teste de germinação, usando quatro repetições de 100 sementes ou, oito de 50, ou ainda 16 de 25. Por outro lado, para algumas espécies, como as do gênero *Tibouchina* e *Eucalyptus*, que possuem sementes muito pequenas, as repetições para o teste de germinação poderão ser formadas por peso. As tabelas de tolerância permitem a comparação dos resultados dentro do teste, entre testes ou com um padrão estabelecido. As RAS permitem, na avaliação do teste de germinação, utilizar 2,5 % de probabilidade para as espécies agrícolas e 1 % de probabilidade para sementes de espécies florestais, considerando que a maior variabilidade natural contribui para o aumento da diferença entre resultados. Esta permissão ba-

seia-se no fato que, a tolerância é aumentada com a diminuição da probabilidade.

A redução do número de sementes por repetição, traz, como conseqüência, a perda de precisão. No caso específico do teste de germinação, as tabelas de tolerância foram elaboradas para quatro repetições de 100 sementes. Desta forma, quando se utiliza sub-repetições de 50 ou de 25 sementes, os resultados devem ser agrupados para formar quatro repetições de 100 sementes. Portanto, as tabelas de tolerância exigidas nas RAS não podem ser aplicadas, quando se utiliza um número menor de sementes para o teste de germinação, como por exemplo, quatro repetições de 25 sementes.

São disponíveis nas RAS, referente ao teste de germinação, as seguintes tabelas, indicando as tolerâncias máximas admitidas para comparação de resultados:

- das repetições do mesmo teste;
- de amostras de trabalho obtidas da mesma ou de diferentes amostras médias do mesmo lote, analisadas no mesmo laboratório;
- de amostras de trabalho obtidas da mesma ou de diferentes amostras médias do mesmo lote, em diferentes laboratórios;
- relativos a cada repetição do mesmo teste de germinação (repetições por peso);
- do teste de germinação ou de tetrazólio da amostra com o padrão estabelecido. (uso exclusivo pela fiscalização, a partir de resultados de análises fiscais);
- de dois testes de germinação realizados a partir de diferentes amostras médias do mesmo lote, quando o resultado da segunda análise é pior do que o resultado da primeira análise, realizada no mesmo laboratório ou em diferentes laboratórios.

O cumprimento de utilizar 400 sementes para um teste de germinação nem sempre é possível para sementes florestais por principalmente três motivos: o primeiro

refere-se à disponibilidade de sementes. Muitas espécies florestais produzem uma pequena quantidade de sementes por ano que, dependendo do valor dessas sementes, não é viável a utilização de 400 sementes para o teste de germinação. O segundo motivo está relacionado ao tamanho das sementes. Muitas espécies florestais possuem sementes muito grandes (Tabela 5.1) o que pode inviabilizar o teste de germinação por questões práticas como, por exemplo, falta de espaço nos germinadores ou necessidade de caixas de germinação muito grandes. Por exemplo, para sementes de *Scleronema micranthum* (cardeiro), as 400 sementes pesariam 35,6 kg (Tabela 5.1).

Devido ao tamanho das sementes, serão necessárias sub-repetições com 25 sementes cada. O recipiente de cada uma das 16 sub-repetições deverá medir 42 x 42 cm, no mínimo. Necessariamente, a avaliação da germinação das sementes desta espécie requer a redução do número de sementes. O terceiro refere-se a espécies raras e/ou ameaçadas de extinção (*Aniba rosaeodora*, pau-rosa) que exigem também procedimentos diferenciados, de preferência não destrutivos. Como a redução do número de sementes para o teste de germinação não é prevista pelas RAS, há necessidade de rever esta possibilidade e adequar as tabelas de tolerância.

5.4.2. Semeadura e espaçamento

O espaçamento entre as sementes no teste de germinação deve ser uniforme e suficiente para minimizar a competição e contaminação entre as sementes e impedir, ao máximo, o entrelaçamento entre as plântulas. O espaçamento mínimo depende do tamanho das sementes. Nas RAS, é recomendada uma distância de 1,5 a 5,0 vezes a largura ou o diâmetro da semente. O espaçamento adequado deve considerar também o aumento do volume das sementes devido ao processo de embebição.

5.4.3. Substrato

A semeadura deve ser realizada em embalagens

contendo o substrato mais apropriado para as sementes a serem testadas. O substrato tem função de prover o ambiente de germinação das sementes e desenvolvimento das plântulas. Os tipos de substratos mais utilizados, descritos e prescritos nas RAS para as espécies listadas, são o papel e a areia. Para espécies não listadas nas RAS, a escolha do substrato deve levar em consideração aspectos morfológicos das sementes (principalmente tamanho e formato), suas exigências em relação à água e a luz e, também, a facilidade que o substrato oferece no momento das avaliações da germinação. A seguir, serão abordadas as diferentes formas de utilização dos substratos recomendados pelas RAS e os tipos de sementes para os quais são mais adequados.

5.4.3.1. Papel: o papel comumente utilizado como substrato nos testes de germinação pode ser mais espesso (tipo mata-borrão) ou mais fino (tipo toalha ou de filtro). As especificações gerais do papel se encontram nas RAS, assim como a descrição de testes biológicos necessários para verificar a toxidade do substrato. A esterilização do papel, caso necessária, pode ser feita em autoclave a uma atmosfera e 120 °C por 30 minutos ou, alternativamente, em estufa regulada a 105 °C durante duas horas. Existem as seguintes formas de semeadura no papel:

Sobre papel (SP): as sementes são colocadas para germinar sobre duas ou mais folhas de papel que podem ser colocadas em caixas de plástico incolor e transparente, em placas de Petri ou diretamente sobre as bandejas do germinador. Este substrato é indicado para sementes pequenas, achatadas e exigentes a luz. Não é recomendado para sementes redondas, pois estas podem ter dificuldade na absorção de água, deslizar no substrato prejudicando o espaçamento e as avaliações.

Entre papel: as sementes são colocadas para germinar entre duas ou mais folhas de papel, sendo descritas as seguintes variações:

1) Entre papel (EP): as sementes são se-



meadas acima de uma ou mais folhas de papel e cobertas frouxamente com mais uma camada de papel. É recomendado para sementes pequenas, que preferem ambientes úmidos e não são sensíveis à luz;

2) Envelope: as sementes são colocadas em envelopes de papel dobrados, podendo ser posicionados na vertical ou horizontal dentro dos germinadores;

3) Rolo de Papel (RP): as sementes são colocadas para germinar entre folhas de papel. As folhas são enroladas e os rolos colocados no germinador, na posição vertical ou horizontal. É o método mais recomendado para sementes de tamanho relativamente grande e não sensíveis à luz, porém é inconveniente para sementes de germinação lenta.

Papel plissado (PP): as sementes são colocadas para germinar entre folhas de papel plissado como uma sanfona. Usualmente, são formadas pelo menos cinco canaletas com cinco sementes cada. As folhas plissadas são então colocadas em caixas ou diretamente nas bandejas do germinador com, geralmente, uma folha de papel lisa ao redor do papel plissado, para garantir condições uniformes de umidade. Este método é mais indicado para unidades de germinação ou sementes múltiplas.

5.4.3.2. Areia: é usada como substrato, para confirmar a avaliação de um teste de germinação com resultado duvidoso, quando as plântulas apresentarem sintomas fitotóxicos ou quando recomendada nas RAS. Pode ser usada em substituição ao papel, quando a avaliação de uma amostra for impraticável por excesso de infecção. Especificações gerais e controle de qualidade do substrato areia podem ser encontradas nas RAS. A areia pode ser lavada e esterilizada antes de seu uso em autoclave a 1 atm e 120 °C durante 60 minutos ou em estufa a 200 °C por duas horas. A areia pode ser reutilizada e, neste caso, deve ser peneirada, lavada, secada e esterilizada antes da reutilização. A areia utilizada em testes com sementes tratadas quimicamente deve ser obrigatoriamente descartada.

A areia tem como inconveniente a desuniformidade na retenção e distribuição da água, uma vez que a água tende a se depositar na parte inferior do substrato. Desta forma, a areia úmida deve ser sempre revirada antes do uso, para homogeneizar a umidade. É especialmente indicada para sementes grandes e globosas. Entretanto, estas necessitam recipientes maiores, contendo muito areia, o que torna os recipientes pesados, dificultando seu manuseio incluindo a danificação das prateleiras dos germinadores.

A semeadura com areia pode ser feita de duas maneiras:

Entre areia (EA): as sementes são colocadas sobre uma camada uniforme de areia e cobertas com areia solta de aproximadamente 1 cm. Este método é mais utilizado para sementes grandes (maior que 2 cm), não exigentes à luz e de lenta germinação.

Sobre areia (SA): neste caso, as sementes são colocadas sobre uma camada uniforme de areia e comprimidas contra a superfície da mesma. É recomendada para sementes exigentes em luz e para aquelas, cujas plântulas no processo de germinação, não suportam resistência física como, por exemplo, *Couratari* sp. (tauari) e algumas espécies do gênero *Aspidosperma* (carapanaúba).

5.4.3.3. Solo: não é recomendado pelas RAS nos testes de rotina de germinação como substrato preferencial, devido à dificuldade de obter estoques padronizados. O solo pode ser usado para avaliação em caso de fitotoxidez ou em testes de vigor.

5.4.3.4. Vermiculita: a vermiculita expandida é um produto industrializado, formado essencialmente por silicatos hidratados de alumínio e magnésio. Por ser um produto de origem mineral é, portanto, inorgânico, sendo também insolúvel em bases e ácidos fracos e solventes orgânicos, apresenta ainda um pH praticamente neutro. Necessita, para sua formação, um aquecimento (cerca de 800 °C) que promove a evaporação da água e a expansão das

partículas que se transformam em flocos sanfonados. Cada floco expandido aprisiona ar inerte, o que confere ao material excepcional leveza, principalmente quando comparada com a areia.

Embora não mencionada nas RAS como substrato para testes de germinação, a vermiculita é amplamente utilizada na produção de mudas de espécies florestais, pois apresenta boa capacidade de absorção e retenção de água, promove boa aeração e possibilita o desenvolvimento adequado das plântulas. A vermiculita pode ser esterilizada antes do uso em autoclave ou descontaminada em estufa. No mercado, é possível encontrar vermiculita de diferentes granulometrias, sendo as mais finas indicadas para sementes menores e as mais grossas para sementes maiores. O substrato não é adequado para sementes muito pequenas, devido à dificuldade de avaliação das sementes mortas e vazias ao final do teste de germinação. Pode ser utilizada nas modalidades:

Entre vermiculita (EV): indicada para sementes de tamanho médio a grande de forma globosa, exigentes em umidade do substrato e não exigentes a luz.

Sobre vermiculita (SV): indicada para sementes exigentes em luz e para aquelas, cujas plântulas no processo de germinação, não suportam resistência física como, por exemplo, *Couratari* sp. (tauari) e algumas espécies do gênero *Aspidosperma* (carapanaúba).

5.4.4. Água

O fornecimento de água é condição essencial para que as sementes iniciem a germinação e as plântulas se desenvolvam normalmente. Sementes que reduziram no final da maturação o seu teor de água toleram, geralmente, um dessecamento adicional que possibilita o armazenamento; estas sementes são chamadas tolerantes ao dessecamento ou ortodoxas. Quando entram em contato com água, intumescem e aumentam seu volume antes de germinar. De outro lado, as sementes sensíveis ao dessecamento ou recalcitrantes, não passam, no final da

maturação, por uma fase de dessecação na planta-mãe. Estas necessitam manter o seu teor de água alto para não perder a germinabilidade. Sementes recalcitrantes, quando semeadas, normalmente não aumentam visualmente o seu volume.

A embebição das sementes tolerantes ao dessecação apresenta um padrão tipicamente trifásico [15]. Na primeira fase, observa-se o aumento do peso e, conseqüentemente, do volume. Esta fase ocorre em sementes vivas e mortas devido um processo físico. Nesta fase, a velocidade de embebição está condicionada à composição química das sementes e a permeabilidade do tegumento, além da disponibilidade de água. Na segunda fase, o peso da semente se mantém estável e, somente as sementes vivas, apresentam atividade metabólica. Os processos biológicos diferenciam esta fase da primeira. As sementes mortas, após a embebição na primeira fase, são atacadas por microrganismos e apodrecem. A terceira fase inicia-se com a protrusão de uma parte do embrião, geralmente, a raiz primária; entretanto, em sementes florestais já foram observadas primeiramente a protrusão de outras estruturas como o hipocótilo em *Hevea* sp. (seringueira) e *Carapa* sp. (andiroba) ou a parte aérea em espécies com germinação bipolar, exemplo *Bertholletia excelsa* (castanha-da-amazônia). Na terceira fase a plântula se desenvolve e, com o crescimento, observa-se aumento de peso. A água a ser empregada no teste de germinação tem suas especificações definidas pelas RAS. De maneira geral, deve ser livre de impurezas orgânicas e inorgânicas e apresentar pH de 6,0 a 7,5. Recomenda-se água destilada, caso a água da torneira não atenda estas características. Para maior controle da qualidade da água, as RAS recomendam a realização periódica da análise da água.

A quantidade inicial de água no teste de germinação depende da natureza e da quantidade do substrato, além de exigências específicas das sementes. Especialmente no uso de papel, deve ser evitado que se forme uma película de água em torno das sementes, pois esse

excesso restringe a aeração e prejudica a germinação. Durante todo o teste, o substrato deve estar suficientemente úmido. Se necessária, a adição subsequente de água fica a critério do analista, mas deve ser evitada sempre que possível, uma vez que pode aumentar as variações entre as repetições e entre os testes. O ressecamento durante os testes de germinação pode ser reduzido, mantendo os recipientes fechados ou a umidade relativa dentro do germinador alta ($> 90\%$). Caso o germinador utilizado não possua sistema de controle da umidade interna, pode-se colocar recipientes com água no interior do equipamento ou umidificadores. As RAS apresentam procedimentos básicos para determinar a quantidade de água de acordo com os diferentes tipos de substratos.

Substrato de papel – para a maioria das sementes recomenda-se adicionar uma quantidade de água de duas a três vezes o peso do papel. Considerando que um litro de água pesa um quilograma, a quantidade de água adicionada pode ser medida em volume. Por exemplo, para 100 g de papel, deve-se adicionar de 200 a 300 mL de água, que corresponde de 200 a 300 g de água.

Substrato de areia – a quantidade de água depende da granulometria da areia e deve ser determinada previamente visando padronizar os testes de rotina do laboratório. Devem ser levadas em consideração as exigências das sementes. Os seguintes exemplos são fornecidos nas RAS: sementes de cereais (exceto as de milho) podem ser semeadas em areia com umidade de 50% da sua capacidade de retenção; sementes grandes de Fabaceae e de milho exigem areia umedecida a 60% da capacidade de retenção.

Na determinação da capacidade de retenção da areia recomenda-se, por exemplo, pesar 500 g da areia seca e colocar em um filtro de papel, tipo coador de café comercial. Em seguida, adicionar uma quantidade de água previamente determinada (por exemplo, 200 mL). Decorridos aproximadamente 15 minutos, o excesso de água aparado é determinado e, por diferença, pode-se determi-

nar a quantidade de água retida na areia. A quantidade retida corresponde a 100% da capacidade de retenção. Com uma “regra de três” pode ser calculada a quantidade de água para 50% ou 60% da capacidade de retenção.

5.4.5. Oxigênio

Após a primeira fase de embebição, a necessidade de oxigênio aumenta, devido a ativação do metabolismo. Se o suprimento com oxigênio não for adequada, haverá retardamento do processo de germinação e a formação da plântula normal poderá ser prejudicada. A maioria das espécies não exige concentração de oxigênio maior que 10% [48]. Esta necessidade é facilmente suprida pelo ar, que apresenta cerca de 20% de oxigênio. Desta forma, pouca ênfase é dada pelas RAS aos cuidados relacionados à aeração das sementes. As recomendações gerais são que sejam evitados todos os fatores que limitem o suprimento de oxigênio, como excesso de umidade e proximidade excessiva entre as sementes na semeadura.

5.4.6. Temperatura

A temperatura regula a germinação em várias formas: determina a capacidade de germinação (porcentagem final), a velocidade de germinação (tempo para primeira contagem e contagem final) e, em algumas espécies, pode superar uma dormência primária e/ou secundária ou induzir uma dormência secundária. As temperaturas cardeais limitam a faixa de temperatura onde a germinação ocorre e, definem as condições ótimas do processo. Entende-se como temperatura mínima e máxima, as condições térmicas nas quais, abaixo ou acima, respectivamente, não se observa mais a germinação. Na temperatura ótima, as sementes apresentam a maior porcentagem de germinação em menor período de tempo. A temperatura ótima de germinação não é comum para todas as espécies, sendo geralmente relacionada com as condições climáticas do habitat natural. Assim, espécies tropicais exigem geralmente uma temperatura mais

elevada do que espécies de zonas temperadas.

Algumas sementes germinam melhor em temperatura constante (por exemplo, *Jacaranda copaia* - caroba ou pará-pará). Porém, no ambiente natural as flutuações de temperatura, relativas aos períodos diurno e noturno, podem ser significativas; assim, algumas espécies exigem temperaturas alternadas (termoperíodo) para a germinação das sementes, como por exemplo, *Dalbergia nigra* (jacarandá-da-bahia) e *Trema micrantha* (trema) (Tabela 5.2). Recentemente foi revelado que, em espécies pioneiras tropicais, a necessidade de temperaturas alternadas para a germinação depende do tamanho das sementes. Sendo que sementes muito pequenas germinam somente em temperaturas constantes e necessitam de luz; com aumento do tamanho, as sementes podem germinar no escuro, porém exigem temperaturas alternadas [53; 61].

Nas RAS são informadas, para todas as espécies listadas, as temperaturas adequadas, nas quais os testes de germinação devem ser conduzidos. Porém, como já mencionado anteriormente, ainda são poucas as espécies florestais tropicais incluídas. Para que uma nova espécie possa ser incluída nas RAS há um longo procedimento. Os resultados científicos devem ser confirmados com sementes de várias procedências e diferenças no vigor; em seguida, a metodologia selecionada deve ser validada entre os laboratórios credenciados, antes que as recomendações possam ser incluídas nas RAS. Os resultados de alguns trabalhos científicos, tratando da temperatura de germinação de mais de 80 espécies tropicais e subtropicais são apresentados na Tabela 5.2. A análise destes dados mostra a temperatura de 25°C como a mais indicada para a maioria destas espécies (excluindo as com indicações de temperaturas alternadas; Figura 5.1). Desta forma, caso a espécie seja de origem tropical e não listada nas RAS, recomenda-se realizar, inicialmente, o teste de germinação na temperatura constante de 25°C.

Uma vez conhecida a temperatura na qual se deve conduzir o teste de germinação, a mesma deve per-

manecer tão uniforme quanto possível no interior do germinador. Como mencionado anteriormente, variações na temperatura podem afetar a velocidade, a porcentagem e a uniformidade da germinação, provocando resultados que não condizem com a qualidade das sementes em avaliação. Desta forma, as RAS prescrevem que a variação de temperatura, devida ao equipamento, não deve ser maior que ± 2 °C, em cada período de 24 horas. Quando indicado a alternância de temperatura para a realização do teste, a temperatura mais baixa deve ser mantida, geralmente, durante 16 horas (período noturno) e a mais alta por oito horas (período diurno).

5.4.7. Luz

As sementes possuem todas as reservas necessárias para formação da plântula normal, sendo que, somente posterior a germinação, há necessidade de fotossíntese para o crescimento da planta. Assim, a luz não é considerada um fator essencial para a germinação, como água, oxigênio e temperatura adequada. Existem algumas sementes que germinam somente na presença de luz, chamadas de sementes fotoblásticas positivas e outras que somente germinam no escuro, chamadas fotoblásticas negativas. Estas exigências são classificadas como dormência e, neste caso, a presença ou ausência de luz são vistas como fatores que superam a dormência. Entretanto, a maioria das espécies produz sementes que são fotoblásticas neutras e germinam na presença ou na ausência de luz.

O fotoblastismo positivo possibilita que as sementes “percebam” a aproximação com a superfície do solo e a abertura de dossel. Em pioneiras neotropicais, foi recentemente mostrado, que a necessidade de luz se reduz gradativamente com aumento do tamanho das sementes, até o ponto em que todas as sementes podem germinar no escuro [53]. Para sementes maiores, a alternância de temperatura se torna mais importante; pois, devido à maior quantidade de reservas, as plântulas

podem alcançar a superfície do solo, mesmo quando as sementes estão enterradas à profundidades que a luz não alcança [75; 61]. A associação entre o tamanho das sementes e o estímulo da germinação pela luz e temperaturas alternadas foi demonstrada para espécies da floresta pluvial tropical semidecídua do Panamá [61] e para pioneiras da Amazônia Central [12]. Uma lista de algumas espécies com sementes fotoblásticas positivas encontra-se na Tabela 5.3.

As plantas possuem fotoreceptores (como o fitocromo, criptocromo e precursores de clorofila), que desencadeiam o processo do desenvolvimento típico na presença de luz (fotomorfogênese). O fitocromo, que apresenta maior sensibilidade na luz vermelha, é também responsável pela quebra de dormência das sementes fotoblásticas positivas. Portanto, mesmo para as fotoblásticas neutras, a iluminação é desejável nos testes de germinação, pois a morfologia de uma planta desenvolvida na luz é diferente do que no escuro. A escuridão torna as plântulas estioladas, hialinas e sensíveis ao ataque de microrganismos. Além disso, certos defeitos, como deficiência de clorofila, não podem ser detectados.

A luz empregada nos testes de germinação pode ser proveniente de fontes naturais ou artificiais. Neste último caso, as RAS recomendam lâmpadas fluorescentes de luz branca e fria devido a relativamente baixa emissão de raios infravermelhos, pois estes podem aumentar a temperatura do experimento; além disso, a emissão espectral na região vermelho é relativamente alta e aciona o fitocromo.

As sementes fotoblásticas positivas devem ser iluminadas durante, no mínimo, oito horas a cada ciclo de 24 horas. O ciclo de 8 horas luz e 18 horas escuro, foi desenvolvido para espécies de zonas temperadas. Em regiões tropicais o período diurno e noturno é similar. Nos laboratórios de pesquisa, utilizam-se, muitas vezes, períodos iguais com 12 horas de escuro e 12 horas de luz. Sementes fotoblásticas devem ser colocadas para germinar sobre o

substrato e a luz deve ser distribuída uniformemente, além de evitar qualquer filtração diferencial da luz antes que esta alcance as sementes.

A avaliação para fins comerciais de espécies com sementes fotoblásticas negativas é desconhecida pelos autores deste capítulo; porém, quando for o caso, deve ser feita no escuro e com luz de segurança verde.

5.5. TIPOS DE GERMINAÇÃO

Nas RAS foram incluídas dois tipos de plântulas: com germinação hipógea ou com germinação epígea, baseado no trabalho de Klebs [40]. Tradicionalmente, na germinação hipógea subentende-se que os cotilédones são criptocotiledonar, quer dizer, permanecem cobertos por uma ou mais camadas do pericarpo ou pelo tegumento da sementes durante a germinação e na germinação epígea os cotilédones emergem da semente e são fanerocotiledonar. Porém, estas características são independentes do alongamento do hipocótilo, que é o responsável pela elevação dos cotilédones acima do nível do solo. Desta forma os tipos de germinação podem ser detalhados, considerando três aspectos distintos: (1) *a posição dos cotilédones relativa à posição da semente*: no caso de germinação hipógea (H), os cotilédones permanecem na altura da semente, quer dizer não há crescimento do hipocótilo; e, na germinação epígea (E), o crescimento do hipocótilo eleva os cotilédones acima do solo; (2) *a exposição dos cotilédones da semente*: quando criptocotiledonar (C), os cotilédones permanecem no interior da semente; e, quando fanerocotiledonar (P), os mesmos emergem da semente e (3) *a forma e função dos cotilédones*, quando não apresentam reservas são do tipo foliar (F), finos e apresentam função fotossintetizante ou haustorial (absorvendo as reservas do endosperma e/ou perisperma); e quando possuem reservas (R) são grossos e não-fotossintetizantes. Estas características podem ser

combinadas fatorialmente ($2 \times 2 \times 2$), o que resulta em oito diferentes tipos de germinação. Todas as combinações já foram encontradas em espécies florestais tropicais, sendo que algumas com maior frequência que outras. Em todos os oito casos, a protrusão do embrião ocorre em somente um lado da semente, na região da micrópila, denominada como germinação unipolar. Porém, em algumas sementes (exemplos em Lecythidaceae, Caryocaraceae, Clusiaceae, etc.), o hipocótilo é o órgão de armazenamento e os cotilédones são rudimentares ou ausentes. Nestas sementes, a raiz e a parte aérea emergem em lados opostos da semente, determinado como germinação bipolar (em dois pólos da semente). Quando se consideram também outras características da plântula, como por exemplo, o tamanho igual ou desigual dos cotilédones, a posição do eixo caulinar em relação aos cotilédones, a presença de catáfilos ou folhas rudimentares antes da formação da primeira folha, pode-se aumentar consideravelmente a lista dos tipos de plântulas tropicais [20; 35; 79]. Entretanto, nove tipos de plântulas, listados na Figura 5.2, podem servir como orientação básica na determinação do tipo de germinação em dicotiledôneas florestais neotropicais. Representantes amazônicos dos diversos tipos de plântulas podem ser encontrados na Tabela 5.1.

As espécies de monocotiledôneas possuem somente um cotilédone e, além das estruturas encontradas nas dicotiledôneas, apresentam algumas estruturas adicionais. Além disso, a organização destas estruturas é diferente, o que torna a classificação dos tipos de germinação em monocotiledôneas ainda mais complicada. Em um levantamento para os neotrópicos, Garwood [35] reconheceu os seguintes tipos de plântulas monocotiledôneas: (a) hipógea-Séssil (H-S), análogo de tipo H-C-R das dicotiledôneas; (b) epígea-peciolata (E-P), análogo do tipo E-C-R; e (c) epígea-foliácea (E-F), análogo do tipo E-F-F. Alguns exemplos destes tipos de germinação são citados na Tabela 5.4.

O manual de avaliação de plântulas da Associação de Tecnologia de Sementes Internacional [38] fornece detalhamento de quatro tipos de plântulas de monocotiledôneas: tipo A: germinação epígea, sem alongamento do epicótilo e com cotilédones verdes, a raiz primária é essencial na avaliação (exemplo, *Allium* sp., alho); tipo B: germinação hipógea, sem alongamento do epicótilo e primeira folha verde, sendo a raiz primária essencial na avaliação (exemplo, *Freesia* sp., frésia); tipo C: germinação hipógea e com alongamento do epicótilo verde, sendo raiz primária essencial na avaliação (exemplo, *Asparagus* sp., aspargo); tipo D: germinação hipógea e primeira folha verde e geralmente envolta pelo coleóptilo transparente. Pode ser subdividido em sub-tipo D-1, com raiz primária essencial na avaliação (exemplo, *Lolium* sp., azevém); sub-tipo D-2, em que a raiz primária pode ser substituída por raízes secundárias (exemplo, *Zea* sp., milho e *Oryza* sp., arroz); sub-tipo D-3, com diversas raízes seminais (exemplo, *Triticum* sp., trigo).

O manual da ISTA classifica três tipos de germinação para as dicotiledôneas: tipo E: germinação epígea, sem alongamento do epicótilo e cotilédones verdes. Pode ser subdividido em sub-tipo E-1, com raiz primária essencial na avaliação (exemplo, *Beta* sp., beterraba, *Daucus* sp., cenoura, *Lactuca* sp., alface; exemplo florestal, *Robinia* sp., acácia-falsa); sub-tipo E-2, com raiz primária podendo ser substituída por raízes secundárias (exemplo, *Cucumis* sp., abóbora e *Gossypium* sp., algodão); sub-tipo E-3, com diversas raízes seminais e hipocótilo tuberoso (exemplo, *Cyclamen* sp., ciclamen); tipo F: germinação epígea, com alongamento do epicótilo, podendo a raiz primária ser substituída por raízes secundárias (exemplo, *Phaseolus* sp., feijão). Observação: todos os exemplos citados do tipo F apresentam cotilédones com reservas e na avaliação deve ser incluído o desenvolvimento da primeira folha. Tipo G: germinação hipógea, com alongamento do epicótilo, podendo a raiz primária ser substituída por raízes secundárias (exemplo, *Pisum* sp., ervilha;

exemplo florestal, *Quercus* sp., carvalho). Há também um oitavo tipo de germinação no manual da ISTA referente às coníferas: tipo H: germinação epígea, sem alongamento do epicótilo, com hipocótilo e cotilédones verdes, com raiz primária essencial na avaliação (exemplo, *Pinus* sp., *pinus* e *Abies* sp., abeto).

As RAS fornecem somente algumas ilustrações sobre plântulas normais e anormais com germinação hipógea (*Araucaria* sp., *Triticum* sp., *Zea mays*, *Pisum* sp.) e epígea (*Allium* sp., *Helianthus* sp., *Phaseolus* sp.).

5.6. DORMÊNCIA DAS SEMENTES

Considera-se uma semente dormente, quando ela não germina, apesar das condições adequadas de água, oxigênio e temperatura para a germinação. Ao passo, o termo quiescente é aplicado a uma semente que não germina, quando uma destas condições não esteja adequada. Portanto, a dormência é uma característica da semente e não do ambiente.

A entrada no estado de dormência, no final da maturação, evita a germinação das sementes ainda na planta-mãe. A superação da dormência na época adequada pode sincronizar a germinação com ambientes favoráveis ao desenvolvimento da plântula. A sincronização com a sazonalidade é especialmente importante em habitats onde alguma época do ano é desfavorável ao desenvolvimento; por exemplo, em zonas temperadas, evita a germinação no outono, quando as sementes são dispersas, e a permite na primavera. A dormência pode também manter as sementes no banco do solo até que o local seja adequado, como a abertura de uma clareira. Em outras palavras, a dormência e o mecanismo de sua superação fornecem às sementes a capacidade de "reconhecer" se o ambiente é favorável à sua germinação e sobrevivência. A dormência pode também distribuir a germinação ao longo do tempo, para aumentar as chances de pepe-

tuação da espécie. Neste caso, a dormência pode resultar em uma germinação esporádica, possível em ambiente com condições favoráveis. Desta forma, a germinação pode ocorrer sem época pré-determinada, sendo importante em espécies florestais que apresentam uma frutificação irregular e/ou não necessitam alta luminosidade para o crescimento inicial. Desta forma, o tipo de dormência é intimamente vinculado com o habitat da espécie e às condições ambientais da época de dispersão e germinação.

Em linhas gerais, o tipo de dormência pode ser definido por três aspectos: pela sua causa (fisiológica, morfológica, física, química ou mecânica), pela definição do local (endógeno no embrião ou exógeno em estruturas fora do embrião, como endosperma, perisperma, tegumento ou pericarpo), e pela definição do momento em que a dormência se manifesta na dispersão (primária) ou após a dispersão (secundária).

Existem vários tipos de dormência nas sementes florestais de climas tropical e subtropical, apesar da sazonalidade ser menos pronunciada nestes ambientes. A dormência fisiológica, que pode ser superada por luz (sementes fotoblasticas) é geralmente encontrada em espécies pioneiras na sucessão florestal [24]. A dormência física, causada pela impermeabilidade do tegumento, é comum em espécies da família Fabaceae e Malvaceae (*Schizolobium amazonicum*, paricá, [74]); *Ochroma pyramidale* pau-de-balsa; Leão et al., (2008). Há dormência morfológica, por exemplo, em *Minquartia guianensis* (acariquara-roxa; [19]) e *Helicostylis tomentosa* (inharda-folha-peluda; [11]). A dormência mecânica é muitas vezes causada por estruturas dos frutos que protegem as sementes dos predadores, como um endocarpo duro nas espécies que possuem frutos tipo drupa. Mesmo sementes sensíveis ao dessecamento (recalcitrantes) podem apresentar estruturas que retardam a germinação (*Eugenia stipitata*, araçá-boi; [8]; *Maquira sclerophylla* - pau-tanino; [56], *Bertholletia excelsa* - castanha-da-amazônia). As es-

pécies que apresentam um longo período de germinação devem ter um tipo de dormência, porém para muitas a causa não foi ainda determinada (Tabela 5.1).

A seguir, será apresentada uma pequena explanação sobre cada tipo de dormência e alguns tratamentos indicados para sua superação. Contudo, a dormência em sementes é um fenômeno complexo e com diversas interações, havendo ainda muitos aspectos a serem estudados e esclarecidos.

5.6.1. Tratamentos para superar a dormência e promover a germinação

A utilização de um tratamento pré-germinativo, ou a combinação de vários, pode aumentar a taxa de germinação e reduzir o tempo do teste de germinação. O tratamento é necessário quando um número considerável de sementes permanece sem germinar no final do teste. Neste caso, pode ser realizado um novo teste de germinação aplicando tratamento pré-germinativo. Quando a dormência é conhecida ou existe a suspeita de dormência, o tratamento pode ser aplicado no teste inicial.

As RAS fornecem uma lista de pré-tratamentos, agrupando-os para a superação da dormência fisiológica; dormência física e para remoção de substâncias inibidoras. Os tratamentos específicos para todas as espécies listadas nas RAS são também indicados. É importante observar que a duração do teste de germinação não inclui o período do pré-tratamento (que pode demorar de poucos minutos até meses). No Boletim de Análise de Sementes deve ser informada a descrição e duração do pré-tratamento.

Para as espécies não listadas nas RAS, a escolha entre os pré-tratamentos deve ser baseada no tipo de dormência, levando em consideração a disponibilidade de materiais e a experiência do analista e da equipe do laboratório. Resultados de pesquisas científicas com sementes da mesma espécie ou do mesmo gênero, também podem auxiliar na tomada de decisão.

5.6.1.1. Métodos para superar a dormência fisiológica

Em linhas gerais, esse tipo de dormência está relacionado aos processos fisiológicos que bloqueiam o crescimento do embrião. O embrião, apesar de fisicamente estruturado e completo, não germina por razões diversas localizadas no próprio embrião. Alguns autores distinguem, além das diferentes causas da dormência fisiológica, ainda três níveis (não profunda, intermediária e profunda [59]). Seguem os principais métodos para a superação da dormência fisiológica listados nas RAS, cada um visando superar uma causa distinta da dormência fisiológica:

Armazenamento em locais secos: para algumas espécies o armazenamento das sementes em locais secos já é suficiente para que a dormência seja superada.

Pré-esfriamento: as sementes são colocadas em substrato úmido, como em um teste de germinação. Porém, são mantidas em ambiente frio (geralmente entre 5 e 10 °C), por um período determinado, antes da transferência para a temperatura recomendada para o teste de germinação.

Pré-aquecimento: as sementes são pré-aquecidas antes do teste de germinação (conforme as exigências da espécie), por um período determinado, antes da transferência para a temperatura recomendada para o teste de germinação.

Nitrato de Potássio – KNO_3 : o substrato do teste de germinação é saturado com solução de 0,2 % de Nitrato de Potássio antes da semeadura. Caso necessário, o reumedecimento do substrato deve ser feito com água.

Ácido Giberélico – GA_3 : umedecimento do substrato de germinação com uma solução de, geralmente, 0,05 % de GA_3 . Dependendo da intensidade da dormência a concentração de GA_3 poderá ser de 0,02 ou 0,08 %.

Germinação a baixa temperatura: a germinação de sementes em temperatura constante inferior à recomendada para o teste de germinação ou em temperatura al-

ternada, diminuindo-se ainda mais a temperatura mínima especificada. Com a redução da temperatura, a germinação tende a ser mais lenta e, neste caso, o teste pode ser estendido.

Luz: os testes devem ser iluminados por, pelo menos, oito horas a cada ciclo de 24 horas; caso o teste seja realizado em alternância de temperatura, o período de luz deve coincidir com o período de temperatura mais alta.

Envelopes de polietileno lacrado: o substrato e as sementes são envolvidos, durante o teste de germinação, com embalagens de polietileno bem ajustados e lacrados.

5.6.1.2. Métodos para superar a dormência física

A dormência física é causada pela impermeabilidade do tegumento à água. Estas sementes não embebem em contato com água e continuam duras. Pode ser confundida com a dormência mecânica, porém sementes com dormência mecânica aumentam o teor de água em contato com água. A dormência física é relativamente comum em espécies florestais, principalmente em representantes da família Fabaceae e Malvaceae. Enquadram-se nessa categoria *Enterolobium* spp. (orelha-de-macaco) *Hymenaea* sp. (jatobá) *Ormosia* sp. (tento) *Parkia* sp. (fava), *Schizolobium* sp. (paricá), *Ochroma pyramidale* (pau-de-balsa), entre outras. A superação desta dormência torna o tegumento permeável à água, ou seja, possibilita que as sementes possam embeber. Conforme o tamanho das sementes e a dureza do tegumento um dos seguintes tratamentos é recomendado:

Embebição: a embebição em água por 24 a 48 horas acelera a germinação.

Escarificação mecânica: perfuração, remoção de um pedaço ou lixamento do tegumento, com uso de alicate, cortador de unha, lixa de papel ou lima. O local da escarificação deve ser na região oposta à protrusão da radícula.

Escarificação química: imersão das sementes em

ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄). O período de imersão varia em função da dureza do tegumento e deve ser determinado para cada espécie. Decorrido o tempo necessário, as sementes e o ácido devem ser despejados em um recipiente de vidro contendo pelo menos um litro de água. Após agitação por alguns minutos, derramar o conteúdo em uma peneira plástica e lavar as sementes em água corrente até eliminar completamente os resíduos do ácido. A utilização desse método exige precauções especiais, devido ao poder corrosivo do ácido sulfúrico, como por exemplo, o uso de equipamentos de proteção individual.

5.6.1.3. Métodos para superar a dormência mecânica

A dormência mecânica é causada por estruturas externas do embrião que impedem mecanicamente a sua expansão e, conseqüentemente, a protrusão da radícula.

O impedimento é muitas vezes causado por estruturas do fruto que protegem as sementes dos predadores, como um endocarpo duro nas espécies que possuem frutos tipo drupa. Existem também tegumentos duros ou fibrosos que oferecem resistência a expansão do embrião.

As unidades de dispersão se mantêm também duras após entrar em contato com água, porém, diferente das sementes com dormência física, os envoltórios são permeáveis a água e troca gasosa. Desta forma, as duas dormências podem ser distinguidas pela determinação do teor de água das sementes após imersão. Devido a permeabilidade dos envoltórios à água e gases, este tipo de dormência também pode ocorrer em sementes sensíveis ao dessecamento (recalcitrantes).

Para a superação da dormência mecânica, os envoltórios devem ser enfraquecidos, removidos completamente ou parcialmente de modo a permitir a expansão do embrião. Às vezes é somente necessário retirar o impedimento pontualmente no local da protrusão da raiz primária (*Eugenia stipitata*, araçá-boi). Neste caso, a retirada do impedimento no lado oposto da protrusão não apresentaria o mesmo efeito. Exemplos com sementes

sensíveis ao dessecamento nas quais a remoção manual do tegumento com faca acelera a germinação são *Carapa* spp. (andiroba) e *Bertholletia excelsa* (castanha-da-amazônia). A retirada do endocarpo, por exemplo, em *Astrocaryum aculeatum* (tucumã), pode ser feita, segurando a unidade de dispersão com uma tira de borracha e quebrando o endocarpo com um golpe de martelo. A rachadura do endocarpo facilita a retirada manual da semente [24].

5.6.1.4. Métodos para superar a dormência morfológica

Em algumas espécies, as sementes são dispersas com o embrião morfológicamente imaturo. Esse tipo de dormência é também conhecido como imaturidade do embrião ou embrião rudimentar. Para que a semente germine, é necessário um determinado período de tempo até que o embrião alcance maturidade. Portanto, somente é necessário esperar para que o embrião possa completar seu desenvolvimento. O ambiente de armazenamento deve ser adequado, sem que temperaturas mais elevadas podem acelerar o processo de maturação. Sementes recalcitrantes de espécies tropicais perdem, geralmente, a viabilidade se armazenadas em temperaturas menores que 15°C.

5.6.1.5. Métodos para remover substâncias inibidoras

A dormência é causada por compostos, geralmente solúveis em água. Esse tipo de dormência é também conhecido como dormência química. Desta forma, a lavagem das sementes em água corrente, pode ser um método eficiente para a superação da dormência.

5.7. CONDUÇÃO DO TESTE DE GERMINAÇÃO

5.7.1. Duração do teste

As avaliações dos testes de germinação (contagens) devem ser reduzidas ao máximo, para evitar danos às plântulas em desenvolvimento e poupar trabalho. As RAS sugerem apenas duas contagens: primeira contagem e contagem final. Porém, avaliações intermediárias podem ser realizadas, caso haja elevada contaminação das sementes ou quando o período de germinação é muito longo. Nas avaliações intermediárias deverão ser removidas as plântulas formadas, com a devida anotação na ficha de avaliação.

A duração do teste de germinação depende de cada espécie e deve permitir que o lote expresse o seu máximo potencial germinativo. As espécies listadas nas RAS têm informados a duração dos testes e o período para a realização da primeira contagem.

Espécies florestais nativas apresentam grande variação no tempo de germinação; como exemplos discrepantes, podem ser: *Parkia pendula* - visgueiro (entre 7 a 9 dias) e *Naucleopsis caloneura* - muiratinga (entre 600 a 1320 dias; Tabela 5.1), pois tratamentos pré-germinativos para a última espécie não são conhecidos. Assim, para estas espécies, como as demais não listadas nas RAS, existe a dificuldade de estimar a duração do teste e cumprir o período necessário. Um longo tempo de germinação torna-se inviável para avaliação num laboratório credenciado e para a comercialização. Segundo as RAS, "para as espécies...onde o teste de germinação não pode ser completado dentro de dois meses, são recomendados testes rápidos de viabilidade, como o Teste de Tetrázólio ... ou Teste de Embrião Excisado...". Esta recomendação pode resolver o problema relacionado à duração do teste de germinação. Porém, continua o problema com a quantidade de sementes necessárias para o teste de germinação ou de tetrázólio, pois para ambos são exigidas 400 sementes, tor-

nando a certificação inviável para muitas espécies nativas.

5.7.2. Interpretação do teste

Nas avaliações do teste de germinação serão observadas o número de sementes germinadas e não germinadas. As sementes que foram capazes de germinar serão classificadas em plântulas normais ou plântulas anormais, de acordo com as definições das RAS. O estágio de desenvolvimento das plântulas deve ser “...suficiente para permitir uma avaliação correta das mesmas e a diferenciação entre plântulas normais e anormais”. Para as plântulas de espécies florestais que possuem grande variação dos tipos de germinação (item 5.5), a correta classificação depende, quase que exclusivamente, do conhecimento e da prática do analista.

Na primeira e em qualquer outra contagem intermediária, devem ser removidas do teste as plântulas que alcançaram o estágio em que todas as estruturas essenciais podem ser precisamente verificadas e as seriamente deterioradas. Porém, devem ser deixadas até a contagem final as plântulas anormais com outros defeitos. Em caso de dúvidas, quanto a anormalidades de plântulas, um novo teste deve ser feito em areia. Outra amostra da mesma espécie, que tenha germinado de modo satisfatório, pode ser simultaneamente semeada para servir de testemunha ao novo teste. Por vezes, é necessário adiar a primeira contagem para que as plântulas atinjam o desenvolvimento adequado.

Para espécies em que o teste de germinação é realizado com unidade-semente múltipla, somente uma plântula normal por unidade é contada para determinar a porcentagem de germinação. Quando solicitado, o número de plântulas normais produzidas por 100 unidades ou o número de unidades que tenha produzido uma, duas ou mais plântulas normais pode ser informado.

As sementes não germinadas, ao final do teste de germinação, serão contadas e classificadas conforme descrito nas RAS em sementes duras, dormentes e mortas.

As suas respectivas porcentagens devem ser informadas no Boletim de Análise de Sementes.

Quando uma quantidade expressiva de sementes duras ou dormentes forem encontradas, deve-se refazer o teste, utilizando um ou um conjunto de métodos para promover a germinação.

Se sementes dormentes forem encontradas a uma taxa de 5% ou mais, deve ser verificado se estas sementes possuem potencial para produzir plântulas normais, utilizando-se o Teste de Tetrázólio ou outro teste de viabilidade. Se, após essa verificação, ainda existir dúvida se a semente está dormente ou morta, deve-se considerá-la como morta.

Deve-se atentar que, caso seja possível observar que uma semente, mesmo que classificada como morta no momento da avaliação, produziu qualquer parte de uma plântula (por exemplo, a ponta da raiz primária), deve ser contada como plântula anormal e não como semente morta.

Apenas quando houver a solicitação do requerente, podem ser feitas outras determinações informando as sementes vazias, sem embrião ou danificadas por insetos.

5.7.3. Repetição do teste de germinação

Existem certos casos descritos nas RAS em que os teste de germinação devem ser refeitos. De maneira geral estes casos ocorrem quando:

1. houver evidências de erros nas condições do teste, sejam eles nas avaliações das plântulas ou nas anotações na ficha. Neste caso, o teste de germinação deve ser repetido usando-se o mesmo método. O resultado deste novo teste é o que deve ser relatado no Boletim de Análise;

2. o resultado do teste de germinação não é confiável devido à fitotoxicidade ou disseminação de fungos ou bactérias. Neste caso deve-se refazer o teste usando um ou mais métodos alternativos, em areia ou solo. O melhor resultado e o método utilizado devem ser relatados no Bo-

letim de Análise;

3. houver certo número de plântulas que são difíceis de serem avaliadas. Para o reteste deve-se usar um ou mais métodos alternativos, em areia. O melhor resultado e o método utilizado devem ser relatados no Boletim de Análise;

4. houver suspeita de dormência. Neste caso, quaisquer dos métodos indicados nas RAS devem ser utilizados em um ou mais testes adicionais. O melhor resultado e o método utilizado devem ser informados no Boletim de Análise de Sementes;

5. a variação entre as repetições de 100 sementes excederem a tolerância máxima permitida pelas RAS. Neste caso, o teste de germinação deve ser refeito, usando o mesmo método. Se a diferença do segundo resultado não exceder à tolerância, a média dos dois testes deve ser relatada no Boletim de Análise. Se o segundo resultado também exceder à tolerância indicada pelas RAS, deve ser feito um terceiro teste usando o mesmo método. A média dos resultados compatíveis deve ser relatada no Boletim de Análise;

6. houver evidência, antes ou durante o teste normal de germinação, da ocorrência de qualquer um dos casos acima, testes de germinação simultâneos podem ser realizados utilizando-se os métodos alternativos indicados pelas RAS;

5.7.4. Cálculo e informação dos resultados

O resultado do teste de germinação representa o potencial máximo do lote de sementes, quando em condições ideais. Deve ser calculado pela médias de quatro repetições de 100 sementes. Caso se utilize sub-repetições, as mesmas devem ser combinadas a formar repetições de 100 sementes. O resultado do teste é expresso em porcentagem, em números inteiros, e a soma das porcentagens de plântulas normais, plântulas anormais, sementes duras, dormentes e mortas deve totalizar 100%. Para os casos em que essa soma não corresponda

a 100%, as RAS estabelecem como deve ser realizada a aproximação. De maneira geral, deve-se: (1) manter a aproximação do número inteiro para a porcentagem de plântulas normais; (2) Selecionar, dentre os outros valores apenas aquele com a maior parte fracionária e fazer a aproximação do mesmo; (3) Pegar apenas o número inteiro dos outros três valores e refazer a soma. Se o valor fechar em 100%, informar esses resultados. Se não, aproximar também o valor com a segunda maior parte fracionária e repetir o cálculo. Lembra-se que, quando houver partes fracionárias iguais, a prioridade é dada para os valores de plântulas anormais, sementes duras, dormentes e mortas. Um exemplo de como proceder as aproximações dos valores é mostrado nas RAS.

Outras informações como a viabilidade de sementes não germinadas e o método utilizado para determiná-la, a porcentagem de outras categorias de sementes não germinadas e o método utilizado para determiná-las, podem ser mencionadas no Boletim de Análise.

Quando se trabalha com sementes que produzem mais de uma plântula normal por unidade de semente (unidades-sementes múltiplas) somente uma plântula normal por unidade de semente é contada no cálculo da porcentagem. Porém, pode-se informar também, por exemplo, o número de plântulas normais produzidas por 100 unidades ou a porcentagem de unidades que produziu uma, duas ou mais que duas plântulas normais.

Para as sementes cujos testes de germinação são feitos com base no peso das quatro repetições, o resultado deve ser expresso pelo número de plântulas germinadas no total do peso de sementes testadas. Neste caso, a tabela de tolerância é diferenciada das demais.

Como já mencionado anteriormente, quando for solicitado pelo interessado, as porcentagens de sementes vazias, sem embrião ou danificadas por insetos podem ser informadas em “Outras Determinações”.

Assim como para a execução de todo o teste de germinação, o preenchimento do Boletim de Análise de Se-

mentos é regido pelas RAS. De maneira geral, é no boletim que devem ser detalhadas todas as informações do teste, como por exemplo, sua duração, data da conclusão, porcentagem de plântulas normais, anormais, sementes duras, dormentes e mortas, substrato e temperatura usadas. Quaisquer tratamentos especiais ou métodos utilizados para promover a germinação também deverão constar no Boletim de Análise de Sementes. Nota-se que, caso haja um valor de porcentagem igual a zero, a recomendação das RAS para o preenchimento do Boletim de Análise é que esse valor seja expresso como “0”.

5.7.5. Tabelas de tolerância

Para que o resultado de um teste de germinação possa ser considerado satisfatório e válido para emissão do certificado, é necessária que a variação entre as porcentagens de germinação das repetições de 100 sementes esteja dentro das tolerâncias máximas permitidas. As tabelas de tolerância devem ser aplicadas, no mínimo, para a categoria de plântulas normais. Maiores detalhes sobre a aplicação destas tabelas foram mencionados neste texto, no item 5.4.1.

5.8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicabilidade da atual versão das RAS para a certificação das sementes de todas as espécies florestais não é possível. A quantidade de sementes para a condução do teste de germinação precisa ser revista para muitas espécies. Conseqüentemente as tabelas de tolerâncias devem ser adequadas, visando também maior variabilidade genética. Há necessidade também de entrar em consenso sobre os diferentes tipos de germinação e em seguida definir as respectivas estruturas essenciais.

Os autores deste capítulo sugerem agrupar as sementes florestais em três grupos para fins de avaliação da qualidade de suas sementes em laboratórios credenciados:

1) o primeiro grupo refere-se as sementes ortodoxas, com tamanho pequeno a médio, que frutificam regularmente todos os anos e produzem sementes em grande quantidade. Para estas, quando é possível finalizar o teste de germinação em, no máximo, oito semanas, a germinabilidade (teste direto) pode ser avaliada conforme prevista nas RAS.

2) no segundo grupo enquadra-se as sementes ortodoxas de tamanho grande e as de que necessitam mais de oito semanas para completar a germinação, além das sementes recalcitrantes. Para tais sementes devem ser aplicados somente testes indiretos para avaliar a viabilidade (sobre a escolha do teste indireto, ver detalhamento abaixo). Em caso de baixa disponibilidade de sementes, tamanho e peso muito grande, o número de sementes, necessário para a certificação, deve ser reduzido.

3) o terceiro grupo engloba as espécies raras e/ou em perigo de extinção. As espécies deste grupo necessitam ser plantadas para assegurar a sua conservação, assim, nenhuma semente deveria ser submetida a um teste destrutivo. Para tais espécies, outros critérios devem ser aplicados, tanto para o tamanho da amostra, como para a avaliação. Deve ser dada preferência para procedimentos não destrutivos.

Os autores deste capítulo sugerem a seguinte ordem de preferência para os testes indiretos:

a) A protrusão da raiz primária pode ser utilizada como teste indireto de germinação para sementes ortodoxas de tamanho pequeno a médio que necessitam mais do que oito semanas para formação de plântulas normais, entretanto, finalizam a protrusão da raiz primária neste período. As sementes recalcitrantes necessitam testes mais rápidos, devido a dificuldade de armazenamento, por isso não foram indicadas para este procedimento.

b) O teste de tetrazólio pode ser utilizado para sementes recalcitrantes e para ortodoxas, que não finalizam a protrusão da raiz em um período de oito semanas. Somente sementes de tamanho pequeno a

médio são recomendadas para este teste, devido ao alto custo do material.

c) O teste de corte pode ser aplicado para as sementes muito grandes tanto ortodoxas como recalitrantes. No caso das recalitrantes a avaliação pode englobar sementes que iniciaram a germinação, conforme sugestão da ISTA [37].

Apesar da quantidade razoável de publicações científicas sobre a germinação das espécies nativas, verificou-se na revisão da literatura que, geralmente, os resultados não podem ser diretamente aplicados na avaliação da qualidade das sementes. Por exemplo, trabalhos científicos caracterizam a germinação pelo tempo inicial, médio e final, a velocidade e/ou o índice de velocidade (IVG) [46]. Porém, para um laboratório de certificação, há a necessidade de conhecer o tempo para a primeira contagem e a contagem final e ambos devem ocorrer em um prazo máximo de oito semanas. O cumprimento deste prazo, também é raramente um objetivo da pesquisa.

Imediatamente há necessidade de protocolos confiáveis e devidamente descritos sobre o teste de tetrazólio, apoiado pela descrição morfológica das sementes. Esses resultados apoiarão, de imediato, a inclusão de novas espécies nas RAS, possibilitando a comercialização de suas sementes com a devida certificação exigida pela Lei de Sementes (Lei n. 10.711, de 05 de agosto de 2003).

Há necessidade de aprimorar testes indiretos. Por exemplo, o teste de corte é um teste sub-utilizado que poderia oferecer informações úteis sobre a qualidade das sementes, além da simples classificação em sementes vazias, atacadas por insetos ou sem embrião. O teste de Raio-X, possuiu a grande vantagem de fornecer resultados imediatamente, além de ser não destrutivo, que poderia ser aplicado em sementes de espécies raras. Desenvolver novos métodos indiretos, por exemplo para sementes grandes é um grande desafio.

Tão importante quanto o desenvolvimento das pesquisas relacionadas acima, é o estabelecimento de pro-

cedimentos padrões nos laboratórios credenciados, para a avaliação das sementes recalitrantes. Devido a curta longevidade e dificuldade de armazenamento, as recalitrantes deveriam receber um tratamento especial e rápido, desde o recebimento da amostra até o preenchimento do Boletim de Análise de Sementes (“furando a fila” das sementes ortodoxas).

As RAS foram desenvolvidas para atestar a qualidade de sementes comercializadas para fins de reprodução de material vegetal. No setor florestal temos a produção de madeira de lei, celulose e papel em plantios comerciais, em grande escala com alto retorno econômico. Temos também árvores exploradas pelos seus produtos não-madeireiros (frutos, sementes, resinas, fibras, óleos essenciais, etc.), algumas em plantios comerciais e outras oriundas do extrativismo, sem sempre sustentável. Há também a restauração florestal e recuperação de áreas degradadas, e a necessidade do replantio de espécies raras ou ameaçadas da extinção. Visando estes últimos objetivos, ao contrário dos exemplos citados anteriormente, necessita-se grande variabilidade genética. Desta forma, o objetivo final das sementes deveria ser levado em consideração na avaliação da qualidade e dos procedimentos. Com essa sugestão, os autores questionam a real necessidade de submeter todas as sementes à mesma rigorosa avaliação da qualidade.

5.9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 ALBRECHT, J.M.F.; COLLI, AM.T. 1995. Avaliação do efeito da temperatura e do substrato na germinação de sementes de *Vochysia divergens* Mart. (cambará). *Informativo ABRATES*, 5(2):175.

2 ALBUQUERQUE, M.C.F.; RODIGUES, T.J.D.; MINOHARA, L.; TEBALDI, N.D.; SILVA, L.M.M. 1997. Temperatura e substrato na germinação de sementes de

saguaragi (*Columbrina grandulosa* Berk.) - Rhamanaceae. *Informativo ABRATES*, 7(1/2):206.

3 AMARAL, D.M.I. 1986. Padronização de Testes em Laboratório com Sementes Florestais. *In: Simpósio Brasileiro sobre Tecnologia de Sementes Florestais. Anais.* Belo Horizonte. p. 267-283.

4 AMARAL, I.D.; GALLARDO, V.R.R; SALTZ, N.A; JAMARDO, A 1978. Metodização e tratamento pré-germinativo de sementes florestais. *Roessleria*, 2(1):40-56.

5 ANDRADE, A.C.S. 1995. Efeito da luz e da temperatura na germinação de *Leandra breviflora* Cogn., *Tibouchina benlhamiana* Cogn., *Tibouchina grandifolia* Cogn. e *Tibouchina moricandiana* (D.C.) Baill. (Melastomataceae). *Rev. Bras. de Sementes*, 17(1):29-35.

6 ANDRADE, A.C.S.; PEREIRA, T.S. 1994. Efeito do substrato e da temperatura na germinação e no vigor de sementes de cedro - *Cedrela odorata* L. (Meliaceae). *Rev. Bras. de Sementes*, 16(1):34-40.

7 ANDRADE, A.C.S.; CUNHA, R; REIS, R.B.; ALMEIDA, K.J.; SOUZA, A.F. 1997. Germinação de sementes de cagaita (*Eugenia dysenterica* D.C.) - Myrtaceae: morfologia do desenvolvimento pós-seminal, influência do tegumento e temperatura na germinação. *Informativo ABRATES*, 7(1/2):205.

8 ANJOS, A.M.G. 1998. *Morfologia e fisiologia da germinação de aracá-boi (Eugenia stipitata spp. sororia McVaugh - Myrtaceae) - uma frutífera nativa da Amazônia Ocidental.* p. 67. Dissertação de mestrado PPG BTRN, INPA/UFAM Manaus-AM.

9 ANJOS, A.M. G.; FERRAZ, I.D.K. 1999. Morfologia, germinação e teor de água das sementes

pseudomonocotiledonares de aração-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *sororia*). *Acta Amazonica*, 29(3),337-348.

10 ARRIGONI, M. de F.; LUCAS, N.M.C. 1989. Propagação de espécies de restinga: germinação de sementes de *Canavalia rosea* (SW) De Candolle (Leguminosae). In: *XL Congresso Nacional de Botânica*. Resumos. Cuiabá. p. 619.

11 ARRUDA, Y.M.B.C; FERRAZ, I.D.K. 2008. Inharé-da-folha-peluda, *Helicostylis tomentosa* (Poepp. & Endl.) Rusby. In.: FERRAZ, I.D.K. e CAMARGO, J.L.C. (Eds). *Manual de Sementes da Amazônia*. Fascículo 6, 12p. INPA, Manaus-AM, Brasil.

12 AUD, F.F. 2008. *Efeito de luz, temperatura e fumaça na germinação de sementes de espécies pioneiras na Amazônia Central*. 58p. Dissertação de mestrado do Programa de Ecologia do PPG-BTRN. INPA, Manaus-AM.

13 BARBOSA, J.M.; BARBOSA, L.M.; SADER, R. 1988. Germinação de sementes de *Cariniana excelsa* Casar. considerando os efeitos causados pelo substrato, temperatura e armazenamento. *Ecossistema*, 12:5-12.

14 BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. 1998. *Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Academic Press, New York, USA. 666p.

15 BEWLEY, J.D. e BLACK, M. 1978. *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination*. New York, Springer-Verlag, v. 1. 306p.

16 BILIA, D.A.C.; BARBEDO, C.J.; COICEV, L.; GUIMARÃES, F.L.C.; MALUF, A.M. 1995. Germinação de sementes de *Cedrella fissilis* VeU. e *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze - Efeito da luz e temperatura. In: *XLVI Congresso Nacional de Botânica*. Resumos. Ribeirão Preto. p.255.

- 17 BORGES, E.E.L.; REGAZZI, A.J.; BORGES, R.C.E.; CANDIDO, J.F. 1980. Efeitos da temperatura e da umidade na germinação de sementes de bálsamo. *Rev. Bras. de Sementes*, 2(2):33-37.
- 18 BRASIL. 2009. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Brasília. 399p.
- 19 CAMARGO, J.L.C.; FERRAZ, I.D.K. 2004. Acariquara-roxa, *Minquartia guianensis* Aubl. Olacaceae In.: FERRAZ, I.D.K.; CAMARGO, J.L.C. (Eds) *Manual de Sementes da Amazônia*. Fascículo 4, 8p. INPA, Manaus - AM, Brasil.
- 20 CAMARGO, J.L.C.; FERRAZ, I.D.K.; MESQUITA, M.R.; SANTOS, B.A.; BRUM, H.D., 2008. *Guia de Propágulos e Plântulas da Amazônia*. Vol 1. Manaus; editora INPA. 168p.
- 21 CASTELLANI, E.D.; AGUIAR, I.R; BANZATTO, D.A. 1997. Efeito da escarificação e da temperatura na germinação de sementes de candiuba (*Trema micrantha* (L.) Blume - Ulmaceae), de diferentes estádios de maturação. *Informativo ABRATES*, 7(1/2):197
- 22 CAVALLARI, D.A.N.; WETZEL, M.M.V.S.; BATISTA, L.A 1992. Substrato e temperatura na germinação de sementes de *Gmelina arborea* Roxb. *Rev. Bras. de Sementes*, 14(1):89-92.
- 23 DIONELLO, S.B.; BASTA, F. 1981. Estudo sobre a germinação de sementes de *Kielmeyera coriacea*. *Brasil-Florestal*, 48:33-42.
- 24 FERRAZ, I.D.K.; LEAL FILHO, N.; IMAKAWA, A.M.; VARELA, V.P.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. 2004. Características básicas para um agrupamento ecológico preliminar

de espécies madeireiras da floresta de terra firme. *Acta Amazonica*. 34 (4) 621-633

25 FERRAZ, I.D.K.; VARELA. V.P., 2003. Temperatura ótima para a germinação das sementes de trinta espécies florestais da amazônia. *In: HIGUCHI, N.; SANTOS, J.; SAMPAIO, P.T.B.; MARENCO, R.A; FERRAZ, J.; SALES, P.C.; SAITO, M.; MATSUMOTO, S. (eds.) Projeto Jacaranda - fase 2: pesquisas florestais na Amazônia central*. ISBN 85-903549-1-1. 252p. INPA, Manaus-AM. Capítulo 9. p. 117-127.

26 FERRAZ, I.D.K., VARELA. V.P., 2003b. Temperaturas cardeais de germinação e sensibilidade ao resfriamento das sementes de guariúba (*Clarisia racemosa* Ruiz et Pavon. - Moraceae). *Revista de Ciências Agrárias* 39:183-191.

27 FERREIRA, S.A.N.; GENTIL, D.F. O. 2006. Extração, embebição e germinação de sementes de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*). *Acta Amaz.*, vol.36, n.2, pp.141-145.

28 FIGLIOLIA, M.B. 1984. Influência da temperatura e substrato na germinação de sementes de algumas espécies de essências florestais nativas. *In: Simpósio Internacional sobre Métodos de Produção e Controle de Qualidade de Sementes e Mudas Florestais*. *Anais*. pp.193-204.

29 FIGLIOLIA, M.B. 1997. Ecofisiologia da germinação de sementes de cabreúva-vermelha (*Myroxylum peruiifereum* L. Fabaceae - Papilionideae) em diferentes regimes de temperatura, umidade e luz. *Informativo ABRATES*, 7(112):210.

30 FIGLIOLIA, M.B.; FAULIM, E.W. 1997. Potencial de germinação de sementes de mirindiba-rosa (*Lafoensia glyptocarpa* Koene. - Lytraceae), em diferentes regimes de



temperatura, umidade e luz. *Informativo ABRATES*, 7(112):209.

31 FIGUEIREDO, F.J.C. e POPINIGIS, F. 1980. Temperatura de germinação para sementes de malva. *Rev. Bras. de Sementes*, 2(2):9-22.

32 FONTINELLI, I.V.C.; MATOS, V.P.; LIMA, A.A de; FONSECA, M. da G. 1994. Influência de diferentes temperaturas e substratos na germinação de sementes de cunhã (*Clitoria ternatea*). *In: XVIII Reunião Nordestina de Botânica. Resumos*. Areia. 149 p.

33 FRASSETTO, E.G.; MENEZES, N.L. 1997. Influência da temperatura de germinação, da abertura dos flutos e da embalagem na viabilidade de sementes de cangerana (*Cabralea canjerana* (Vell.) Mart.) - Meliaceae. *Informativo ABRATES*, 7(1/2):213.

34 GARCIA, Q. de S.; LUCAS, N.M.C. 1989. Germinação de sementes de *Jacquinia brasiliensis* Mez (Theophrastaceae). *In: XL Congresso Nacional de Botânica. Resumos*. Cuiabá. p.627.

35 GARWOOD, N.C. 2009. *Seedlings of Barro Colorado Island and the Neotropics*. Cornell University Press. 645p.

36 GOLDMAN, G.H.; GOLDMAN, M.H.S.; AGUIAR, J.P.L. 1986/87. Estudos sobre a germinação de sementes de marupá (*Simaruba amara* Aubl.) I. Composição química e curva de embebição das sementes; germinação em diferentes substratos. *Acta Amazonica*, 16/17(único):383-392.

37 I.S.T.A. 1998. *ISTA Tropical and sub-tropical tree and shrub seed handbook*. International Seed Testing Association. Zürich, Switzerland. 204p.

- 38 I.S.T.A. 2007. *International Rules for Seed Testing*. International Seed Testing Association. Zürich, Switzerland. Edition 2007/1. I
- 39 IMAKAWA, A.M.; FERRAZ, I.D.K. 1995. Germinação e características biométricas de *Cariniana micrantha* Ducke (Lecythidaceae) na Amazônia Central. In: *I Reunião dos Botânicos da Amazônia. Resumos*. Belém. pp. 127-128.
- 40 KLEBS, G. 1885. Beiträge zur Morphologie und Biologie der Keimung. *Unters. Bot. Inst. Tübingen*. 1:536-635.
- 41 LEAL FILHO, N.; BORGES, E.E.L. 1992. Influência da temperatura e da luz na germinação de sementes de canudo de pito (*Mabea fistulifera* Mart.). *Rev. Bras. de Sementes*, 14(1):57-60.
- 42 LEAO, N.V.M; FREITAS, A.D.D.; CARRERA, R.H.A. 2008. Pau-de-balsa *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lamb.) Urban. *Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia*. N. 13. disponível em: < <http://rsa.ufam.edu.br:8080/sementes/especies/especies.jsp> > .
- 43 LEITE, I.T. de A; TAKAKI, M. 1995. Efeito da luz e da temperatura sobre a germinação de sementes de *Mutinga calabura* L. In: *XLVI Congresso Nacional de Botânica. Resumos*. Ribeirão Preto. p. 255.
- 44 LIMA, C.M.R; BORGHETTI, F.; SOUSA, M.V. 1997. Temperature and germination of the leguminosae *Enterolobium contortisiliquum*. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 9(2):97-102.
- 45 LUDEWIGS, T.; FERRAZ, I.D.K.; FERNANDES, E.C.M.. 1997. Germinación y depredación de semillas de *Vismia* sp. en Brasil. *Boletín Mejoramiento Genético y*

Semillas Forestales. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 17 (agosto) 7-13.

46 MAGUIRE, J.D. 1962. Speed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop. Science.*, v. 9, n. 2, p.176-177.

47 MALUF, A.M. 1992. Variação populacional na germinação e dormência de sementes de *Senna multijuga*. In: *Anais do II Congresso Nacional sobre Essências Nativas*, São Paulo. Rev. Inst. Flor., 4(único):728-732.

48 MARCOS FILHO, J. 2005. *Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas*. Piracicaba: Fealq. 495p.

49 MARQUES, F.C.M. et al. 1978. Efeito da temperatura na germinação de sementes de pau-rei. *Anais do 3º Congresso Florestal Brasileiro*. Vol.2;376-381.

50 MARTINS NETO, D.A. 1994. Germinação de sementes de pau-de-balsa (*Ochroma pyramidale* (Cav.) Urb.) - Bombacaceae. *Rev. Bras. de Sementes*, 16(2):159-162.

51 MELHEM, T. 1975. Desenvolvimento da plântula de *Dipteryx alata* Vogo (Leguminosae-Lotoideae). *Hoehnea*, 5:91-121.

52 MESQUITA, M.R.; FERRAZ, I.D.K.; CAMARGO, J.L. C. 2009. Angelim-vermelho, *Dinizia excelsa* Ducke. In.: FERRAZ, I. D. K. e CAMARGO, J. L. C. (Eds) *Manual de Sementes da Amazônia*. Fascículo 8, 12p. INPA, Manaus – AM, Brasil.

53 MILBERG, P.; ANDERSSON, L.; THOMPSON, K. 2000. Large seeded species are less dependent on light for germination than small seeded ones. *Seed Science Research*, 10:99-104.

- 54 MILES, S.R. 1963. *Handbook of tolerances and of measures of precision for seed testing. Proceedings of the International Seed Testing Association*, Bassersdorf, v.28;525-686.
- 55 MIRANDA, P.R.M. 1998. *Morfologia de frutos, sementes, germinação e plântulas e o efeito da temperatura na germinação e viabilidade de sementes de sete espécies florestais da Amazônia Central*. 147 p. Dissertação de mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Universidade do Amazonas. Manaus-AM.
- 56 MIRANDA, P.R.M.; FERRAZ, I.D.K. 1999. Efeito da temperatura na germinação de sementes e morfologia de plântulas de *Maquira sclerophylla* (Ducke) C. C. Berg. *Revista Brasileira de Botânica* 22;303-307.
- 57 NEGREIROS, G. de F.; TEIXEIRA, E.M.; DEMATTÊ, M.E.S.P. 1995. Efeito da temperatura e da luz na germinação de sementes de *Gypsophila elegans* Bieb. *Informativo ABRATES*, 5(2):156.
- 58 NEVES, A.S.; LUCAS, N.M.C. 1989. Germinação de sementes de *Kielmeyera albopunctata* Saddi (Guttiferae). *In: XL Congresso Nacional de Botânica. Resumos*. Cuiabá.
- 59 NIKOLAEVA, N.G. 1977. Factors controlling the seed dormancy pattern. In.: KHAN, A.A. (Ed). *The Physiological and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination*, pp.51-74. North-Holland, Amsterdam.
- 60 NOGUEIRA, A.C.; KUNIYOSHI, Y.S.; TIEPOLO, G. 1995. Substrato e temperatura na germinação de sementes de *Tabebuia cassinoides* (Lamb.) De Candolle - caxeta. *Informativo ABRATES*, 5(2):205.
- 61 PEARSON, T.H.R.; BURSLEM, D.F.R.P.; MULLINS, C.E.; DALLING, J.W. 2002. Germination Ecology of

neotropical pioneers: interacting effects of environmental conditions and seed size. *Ecology*, 83:2798-2807.

62 PEREIRA, T.S.; ANDRANDE, A.C.S. 1993. *Myrcia lineata* L. Influência da coloração dos frutos: tipos de substrato e temperatura sobre a germinação das sementes. *Informativo ABRATES*, 3(3):79.

63 RAMOS, A; BIANCHETTI, A 1984. Influência da temperatura e do substrato na germinação de sementes florestais. *In: Simpósio Internacional sobre Métodos de Produção e Controle de Qualidade de Sementes e Mudanças Florestais. Anais.* pp.252-275.

64 RANKIN-DE-MERONA, J.M.; PRANCE, G.T.; HUTCHINGS, R.W.; SILVA, F.M.; RODRIGUES, W.A.; UEHLING, M.E. 1992. Preliminary results of large-scale tree inventory of upland rain forest in the Central Amazon. *Acta Amazonica*, 22:493-534.

65 RIBEIRO, J.E.L.S.; HOPKINS, M.J.G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C.; COSTA, A.A.S.; BRITO, J.M.; SOUZA, M.A.D.; MARTINS, L.H.P.; LOHMANN, L.G; ASSUNÇÃO, P.A.C.L; PEREIRA, E.C.; SILVA, C.F.; MESQUITA, M.R.; PROCÓPIO, L.C. 1999. *Flora da Reserva Ducke. Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central.* Manaus, INPA. 816p.

66 RODRIGUES, W.A. 1989. Pesquisador do INPA-CPBO, Manaus-AM. comunicação pessoal.

67 ROEDER, M. 2010. *Liana Regeneration in Secondary and Primary Forests of Central Amazonia.* 88p. Tese de doutorado. Universidade de Georg-August, Göttingen, Alemanha (disponível em: < <http://webdoc.sub.gwdg.de/diss/2010/roeder/> > .

68 SALOMÃO, A.N.; EIRA, M.T.S.; CUNHA, R. 1991. Temperatura para teste de germinação de *Dalbergia nigra*

Allem. *Informativo ABRATES*, 1(4):79.

69 SILVA, A; AGUIAR, I.B. 1997. Germinação de sementes de canela-preta (*Ocotea catharinensis* - Mez. Lauraceae) em diferentes condições de luz e temperatura. *Informativo ABRATES*, 7(1/2):203.

70 SILVA, A; CASTELLANI, E.D.; SADER, R; AGUIAR, I.B.; RODRIGUES, T.J.D. 1995. Influência da luz e da temperatura na germinação de sementes de guarantã (*Esenbeckia leiocarpa* Engl.). *Informativo ABRATES*, 5(2):165.

71 SILVA, F.C.; AFONSO, A.A 1985. Determinação da temperatura ideal de germinação de sementes de copaíba (*Copaifera longsdorfii* Desf). In.: *Congresso Brasileiro de Sementes. Resumos*. Brasília. p.145.

72 SILVA, L.M.M.; MATOS, V.P. 1995. Efeito da qualidade da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Triplaris surinamensis* Chamo (Coaçu). *Informativo ABRATES*, 5(2):189.

73 SOUZA, A.D.O.; ANDRADE, A.C.S.; LOUREIRO, M.B. 1995. Efeito do substrato e da temperatura na germinação de sementes de palmitero (*Euterpe edulis* Mart). *Informativo ABRATES*, 5(2):190.

74 SOUZA, D.B; CARVALHO, G.S; RAMOS, E.J.A., 2005. Paricá, *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke. *Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia*. N. 13. disponível em: < <http://rsa.ufam.edu.br:8080/sementes/especies/especies.jsp> > .

75 SOUZA, R.P.; VALIO, I.F.M. 2001. Seed size, seed germination and seedling survival of brazilian tropical tree species differing in successional status. *Biotropica*, 33:447-457.



- 76 TAKAHASHI, L.; MELGES, E.; CARNEIRO, J.W.P. 1995. Desempenho germinativo de sementes de *Stevia* sob diferentes temperaturas. In: *XLVI Congresso Nacional de Botânica. Resumos*. Ribeirão Preto. p.245.
- 77 VÁZQUEZ-YANES, C. 1979. Notas sobre la ecofisiología de la germinación de *Cecropia obtusifolia* Bertol. *Turrialba*, 29:147-149.
- 78 VLEESHOUWERS, L.M.; BOUWMEESTER, H.J.; KARSSSEN, C.M. 1995. Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of Ecology* 83,1031-11037.
- 79 VOGEL, E.F. de 1980. *Seedlings of dicotyledons; Structure, development, types. Descriptions of 150 Woody Malesian taxa*. Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation ([PUDOC]). 465p.
- 80 ZPEVAK, F.A; PEREZ, S.C.J.G.A 1993. Efeito da temperatura na germinação de sementes de *Adenanthera pavonia*. *Informativo ABRATES*, 3(3):75.

Anexos

Tabela 5.1. Características das sementes (ou da unidade de sementeira) e da germinação em condições de viveiro na região de Manaus, de 50 espécies florestais da Amazônia. Dados extraídos de Camargo et al., 2008.

Espécie	Nome popular	Família	Massa de uma semente ou unidade de sementeira (g) média (min - max)	Tempo para formação de plântula (dia) média (min - max)	Dormência**
Bocageopsis multiflora	enira-surucucu-da-folha-miúda	Annonaceae	0,09 (0,04 - 0,11)	210 (NI - NI)	C - E - F NI
Guatteria olivaceae	envira-bobó	Annonaceae	0,2 (0,2 - 0,3)	70 (63 - 126)	P - E - F NI
Ambelania acida	pepino-doce	Apocynaceae	0,04 (0,04 - 0,05)	240 (150 - 480)	P - E - F NI
Protium apiculatum	breu-preto	Burseraceae	0,4 (0,3 - 0,5)	26 (25 - 27)	C - E - R sem
Protium decandrum	breu-ambulante	Burseraceae	0,6 (0,2 - 1,0)	21 (NI - NI)	C - H - R NI
Protium hebetatum	breu-do-nó-inchado	Burseraceae	3,0 (2,0 - 4,1)	35 (21 - 70)	C - H - R NI
Protium spruceanum	breu-do-pó-branco	Burseraceae	0,4 (0,3 - 0,5)	56 (49 - 84)	C - H - R NI
Couepia longipendula	castanha-de-galinha	Chrysobalanaceae	48 (23 - 94)	70 (63 - 77)	P - E - R NI
Calophyllum brasiliense	jacareúba	Clusiaceae	3,3 (2,3 - 4,2)	30 (15 - 53)	C - H - R sem
Buchenavia grandis	tanimbuca-da-terra-firme	Combretaceae	1,9 (0,9 - 2,7)	34 (29 - 43)	P - E - F sem
Conceveiba hostmanii	urucuarana-mabi	Euphorbiaceae	0,6 (0,2 - 0,7)	39 (32 - 55)	P - E - F sem

Hevea brasiliensis	seringueira	Euphorbiaceae	4,9 (2,0 - 6,2)	27 (11 - 45)	C - H - F	sem
Hevea guianensis	seringueira-vermelha	Euphorbiaceae	1,5 (0,8 - 2,5)	22 (15 - 27)	C - H - F	sem
Copaifera multijuga	copaíba-roxa	Fabaceae	1,8 (1,3 - 2,5)	28 (16 - 58)	P - E - R	sem
Dinizia excelsa	angelim-vermelho	Fabaceae	0,2 (0,1 - 0,3)	12 (10 - 27)	P - E - F	Física
Hymenaea reticulata	juatí-mirim	Fabaceae	2,9 (1,3 - 4,8)	26 (23 - 30)	P - E - R	Física
Hymenaea parviflora	juatí-do-fruto-grande	Fabaceae	4,3 (2,6 - 6,4)	35 (28 - 44)	P - E - R	Física
Parkia multijuga	paricá-grande-da-terra-frime	Fabaceae	7,4 (3,0 - 9,2)	15 (09 - 25)	C - H - R	Física
Parkia nitida	faveira-bengue	Fabaceae	0,7 (0,4 - 1,0)	12 (11 - 23)	P - E - R	Física
Parkia pendula	visgueiro	Fabaceae	0,1 (0,05 - 0,2)	08 (07 - 09)	P - H - R	Física
Peltogyne paniculata	escorrega-macaco	Fabaceae	0,6 (0,4 - 0,9)	21 (07 - 35)	P - E - R	sem
Swartzia polyphylla	paracutaca	Fabaceae	78 (20 - 112)	42 (35 - 56)	P - H - R	sem
Swartzia recurva	muirajibóia-amarela	Fabaceae	5,8 (3,6 - 7,7)	35 (28 - 42)	C - H - R	sem
Swartzia reticulata	arabá-preto	Fabaceae	60,1 (22,5 - 96,8)	57 (38 - 87)	P - H - R	NI

Swartzia tessmanii	muirajibóia	Fabaceae	1,9 (1,3 - 2,5)	98 (84 - 140)	C - H - R	NI
Aniba rosaeodora	pau-rosa	Lauraceae	3,5 (1,8 - 5,5)	77 (35 - 210)	C - H - R	NI
Cariniana micrantha	castanha-de-macaco	Lecythidaceae	0,14 (0,08 - 0,17)	28 (21 - 56)	P - E - F	sem
Eschweilera coriacea	matamatá-verdadeiro	Lecythidaceae	7,8 (2,5 - 14,9)	20 (12 - 35)	BIPOLAR	sem
Eschweilera cyathiformis	matamatá	Lecythidaceae	2,0 (1,6 - 2,6)	49 (28 - 112)	BIPOLAR	NI
Eschweilera romeo-car-dosoi	matamatá-romeu	Lecythidaceae	3,9 (3,0 - 4,9)	20 (13 - 36)	BIPOLAR	sem
Eschweilera truncata	matamaté-preto	Lecythidaceae	2,0 (1,1 - 3,1)	27 (25 - 30)	BIPOLAR	sem
Eschweilera wachenheimii	matamatá-mirim	Lecythidaceae	1,7 (0,5 - 3,5)	24 (12 - 45)	BIPOLAR	sem
Lecythis barneby	jarana-da-folha-grande	Lecythidaceae	15,5 (7,1 - 21,2)	154 (98 - 224)	BIPOLAR	NI
Lecythis prancei	castanha-jarana	Lecythidaceae	75 (24 - 141)	259 (161 - 420)	BIPOLAR	NI
Byrsonima chrysophylla	murici	Malvaceae	0,4 (0,3 - 0,6)	307 (127 - 457)	P - E - F	NI
Catostemma albu-querque	mamorana	Malvaceae	70 (23 - 111)	70 (35 - 287)	P - H - R	NI
Scleronema micranthum	cardeiro	Malvaceae	89 (31 - 220)	70 (42 - 140)	P - H - R	NI

Mouriri collocarpa	mamãozinho	Melastomataceae	1,9 (1,0 - 3,0)	161 (77 - 210)	C - H - R	NI
Guarea carinata	jatuáuba-vermelha	Meliaceae	0,8 (0,2 - 0,9)	98 (70 - 140)	C - H - R	NI
Guarea silvatica	jitó	Meliaceae	3,6 (0,7 - 5,2)	91 (63 - 161)	C - H - R	NI
Clarisia racemosa	guariúba	Moraceae	1,1 (0,3 - 1,7)	40 (34 - 52)	P - H - R	sem
Helicostylis tomentosa	inharé-da-folha-peluda	Moraceae	0,25 (0,12 - 0,36)	39 (26 - 88)	C - H - R	Mecânica e morfológica
Naucleopsis caloneura	muiratinga	Moraceae	3,3 (2,6 - 4,2)	960 (600 - 1320)	C - H - R	NI
Iryanthera juruensis	ucuubarana-punã	Myristicaceae	3,9 (3,1 - 5,0)	63 (35 - 112)	C - H - F	NI
Iryanthera laevis	ucuubarana-vermelha	Myristicaceae	2,5 (1,8 - 3,0)	35 (28 - 49)	C - H - F	sem
Minquartia guianensis	acariquara-roxa	Oleaceae	1,5 (1,2 - 2,0)	28 (15 - 65)	C - E - F	Mecânica e morfológica
Pouteria guianensis	abiurana-gigante	Sapotaceae	3,3 (1,7 - 4,6)	33 (22 - 43)	P - H - R	sem
Pouteria jariensis	abiu-do-jari	Sapotaceae	1,3 (0,7 - 1,6)	55 (39 - 97)	P - E - R	NI
Duckeodendron cestroides	pincel-de-macaco	Solanaceae	29 (14 - 47)	360 (270 - 390)	P - E - F	NI
Pourouma melionii	imbaubarana	Urticaceae	0,8 (0,6 - 0,9)	49 (42 - 91)	C - H - R	NI

* Classificação dos tipos de germinação: a primeira letra indica a exposição dos cotilédones, podendo ser criptocotiledonar (C) ou fanerocotiledonar (P). A segunda letra indica o alongamento do hipocótilo, podendo ser epígea (E) ou hipógea (H) e a terceira letra indica a classificação dos cotilédones em foliáceos (F) ou com reservas (R). O termo "Bipolar" indica que a protrusão da raiz e da parte aérea ocorre em pólos opostos da semente.

** Foi considerado sem dormência, quando a germinação finalizou em um período menor que 60 dias. Caso o tipo de dormência seja mencionado, o tempo para formação de plântulas normais foi obtido após o tratamento de quebra de dormência.

NI- Não Informado



Tabela 5.2. Temperaturas recomendadas para o teste de germinação de sementes florestais tropicais e subtropicais do Brasil.

Espécie	Família	Temperatura (°C)	Fonte	
<i>Acacia decurrens</i>	Fabaceae Mim.	20:30	Amaral,1986	*
<i>Adenanthera pavonina</i>	Fabaceae Caes.	20, 25, 30, 35	Zpevak e Peres, 1993	*
<i>Anadenanthera macrocarpa</i>	Fabaceae Mim.	20, 25, 30,20:30	Figliolia, 1984	*
<i>Aniba roseaodora</i>	Lauraceae	25, 30	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Apuleia leiocarpa</i>	Fabaceae Caes.	30	Amaral, 1986	*
<i>Aspidosperma polyneuron</i>	Apocynaceae	20, 25,25	Ramos e Bianchetti, 1984 Figliolia, 1984	*
<i>Astronium urundeuva</i>	Anacardiaceae	25:30	Albrecht e Colli,1995	*
<i>Bauhinia variegata</i>	Fabaceae Caes..	20, 25, 30 20:30	Figliolia, 1984	*
<i>Bertholletia excelsa</i>	Lecythidaceae	30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Brosimum rubescens</i>	Moraceae	25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Buchenavia grandis</i>	Combretaceae	25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Buchenavia macrophylla</i>	Combretaceae	25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Buchenavia viridiflora</i>	Combretaceae	25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Cabralea canjerana</i>	Meliaceae	20	Frassetto e Menezes, 1997	*
<i>Calophyllum angulare</i>	Clusiaceae	30	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Canavalia rosea</i>	Fabaceae Pap.	35	Arrigoni e Lucas, 1989	*
<i>Carapa guianensis</i>	Meliaceae	35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Carapa procera</i>	Meliaceae	20, 25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Cariniana estrellensis</i>	Lecythidaceae	30	Bilia <i>et al.</i> ,1995	*
<i>Cariniana excelsa</i>	Lecythidaceae	25	Barbosa <i>et al.</i> ,1988	*
<i>Cariniana micrantha</i>	Lecythidaceae	20, 25, 30 20:30	Imakawa e Ferraz, 1995	*
<i>Cassia leptophylla</i>	Fabaceae Caes.	20:30	Amaral,1986	*
<i>Cedrela odorata</i>	Meliaceae	25, 30	Andrade e Pereira, 1994	*
<i>Cedrela fissilis</i>	Meliaceae	25 20, 25, 30 30 30 20:30	Amaral <i>et al.</i> , 1978 Figliolia, 1984 Amaral, 1986 Bilia <i>et al.</i> ,1995 Figliolia,1984	*
<i>Cedrelinga cataeniformis</i>	Fabaceae Mim.	25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Chorisia speciosa</i>	Malvaceae	20, 25, 30 20:30	Figliolia, 1984	*
<i>Clarisia racemosa</i>	Moraceae	30	Ferraz e Varela, 2003 b	
<i>Clitoria ternatea</i>	Fabaceae Pap.	20:30	Fontinelli <i>et al.</i> ,1994	*
<i>Cochlospermum orinoccense</i>	Cochlospermaceae	20, 25	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Columbrina glandulosa</i>	Rhamanaceae	25 20:30	Albuquerque <i>et al.</i> ,1997	*

<i>Copaifera langsdorfti</i>	Fabaceae Caes.	25	Silva e Afonso, 1985	*
<i>Copaifera multijuga</i>	Fabaceae Caes.	30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Cordia trichotoma</i>	Boraginaceae	25 20:30	Amaral, 1986	*
<i>Couma guianensis</i>	Apocynaceae	20, 25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Couma utilis</i>	Apocynaceae	25	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Dalbergia nigra</i>	Fabaceae Pap.	20:30	Salomão <i>et al.</i> , 1991	*
<i>Dalbergia variabilis</i>	Fabaceae Pap.	25	Amaral, 1986	*
<i>Dinizia excelsa</i>	Fabaceae Mim.	25	Mesquita <i>et al.</i> , 2009	
<i>Diploptropis sp.</i>	Fabaceae Pap.	25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Dipteryx alata</i>	Fabaceae Pap.	30, 35	Melhem, 1975	*
<i>Dipteryx magnifica</i>	Fabaceae Pap.	25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Dipteryx odorata</i>	Fabaceae Pap.	20, 25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	Fabaceae Mim.	de 18 a 38 20:30	Lima <i>et al.</i> , 1997 Amaral, 1986	*
<i>Enterolobium schomburkii</i>	Fabaceae Mim.	25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Esenbeckia leiocarpa</i>	Rutaceae	25, 30 25:30	Silva <i>et al.</i> , 1995	*
<i>Eugenia dysenterica</i>	Myrtaceae	20	Andrade <i>et al.</i> , 1997	*
<i>Euterpe edulis</i>	Arecaceae	25 20:30	Amaral, 1986 Souza <i>et al.</i> , 1995	*
<i>Euterpe precatoria</i>	Arecaceae	25, 30	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Geissospermum sp.</i>	Apocynaceae	30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Gmelina arborea</i>	Lamiaceae Vitico.	25	Cavallari <i>et al.</i> , 1992	*
<i>Gypsophila elegans</i>	Caryophyllaceae	20:25	Negreiros <i>et al.</i> , 1995	*
<i>Helicostylis tomentosa</i>	Moraceae	25, 30	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Hovenia dulcis</i>	Rhamnaceae	20 25	Ramos e Bianchetti, 1984 Amaral, 1986	*
<i>Jacaranda copaia</i>	Bignoniaceae	25, 30	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Jacaranda micrantha</i>	Bignoniaceae	20, 25 30	Ramos e Bianchetti, 1984 Amaral, 1986	*
<i>Jacquinia brasiliensis</i>	Primulaceae	25	Garcia e Lucas, 1989	*
<i>Kielmeyera albopunctata</i>	Clusiaceae Bonnetioideae	25	Neves e Lucas, 1989	*
<i>Kielmeyera coriacea</i>	Clusiaceae Bonnetioideae	22, 27	Dionelo e Basta, 1981	*
<i>Lafoensia glyptocarpa</i>	Lythraceae	20:30	Figliolia e Faulim, 1997	*
<i>Leandra breviflora</i>	Melastomataceae	30	Andrade, 1995	*
<i>Luehea divaricata</i>	Malvaceae	25	Amaral, 1986	*
<i>Mabea fistulifera</i>	Euphorbiaceae	25, 30	Leal Filho e Borges, 1992	*
<i>Maquira scleropylla</i>	Moraceae	30	Miranda, 1998	
<i>Miconia cinnamomifolia</i>	Melastomataceae	30 20:30, 25:35	Pereira e Andrade, 1995	*
<i>Mimosa scrabella</i>	Fabaceae Mim.	22, 24, 26 20:30	Ramos e Bianchetti, 1984 Amaral, 1986	*
<i>Minquartia guianensis</i>	Olcaceae	30	Camargo e Ferraz, 2004	

<i>Minquartia guianensis</i>	Olcaceae	30	Camargo e Ferraz, 2004	
<i>Muntingia calabura</i>	Muntingiaceae	35	Leite e Takaki, 1995	*
<i>Myrcia lineata</i>	Myrtaceae	20:30	Pereira e Andrade, 1993	*
<i>Myrocarpus frondosus</i>	Fabaceae Pap.	25	Amaral, 1986	*
<i>Myroxylon balsamum</i>	Fabaceae Pap.	20	Borges <i>et al.</i> , 1980	*
<i>Myroxylon peruiferum</i>	Fabaceae Pap.	20:30	Figliolia, 1997	*
<i>Ochroma pyramidale</i>	Malvaceae	30 30, 35	Martins Netto, 1994 Ferraz e Varela, 2003	*
<i>Ocotea catharinensis</i>	Lauraceae	20	Silva e Aguiar, 1997	*
<i>Ocotea puberula</i>	Lauraceae	25	Amaral, 1986	*
<i>Parapiptadenia rigida</i>	Fabaceae Mim.	25 20, 25	Amaral <i>et al.</i> , 1978 Ramos e Bianchetti, 1984	*
<i>Parkia discolor</i>	Fabaceae Mim.	25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Patagonula americana</i>	Boraginaceae	25	Amaral, 1986	*
<i>Peltogyne paniculata</i>	Fabaceae Caes.	20, 25, 30	Ferraz e Varela, 2003	
<i>Peltophorum dubium</i>	Fabaceae Caes.	25 20, 26	Amaral <i>et al.</i> , 1978 Ramos e Bianchetti, 1984	*
<i>Prunus brasiliensis</i>	Rosaceae	20, 26	Ramos e Bianchetti, 1984	*
<i>Schizolobium parayba</i>	Fabaceae Caes.	25, 30	Ramos e Bianchetti, 1984	*
<i>Senna multijuga</i>	Fabaceae Caes.	30, 35	Maluf, 1992	*
<i>Simarouba amara</i>	Simaroubaceae	30 30, 35	Goldman <i>et al.</i> , 1986/87 Ferraz e Varela, 2003	
<i>Sterculia stricta</i>	Malvaceae	30	Marques <i>et al.</i> , 1978	*
<i>Stevia rebaudiana</i>	Asteraceae	25	Takahashi <i>et al.</i> , 1995	*
<i>Styrax leprosum</i>	Styracaceae	20:30	Amaral, 1986	*
<i>Tabebuia avellanedae</i>	Bignoniaceae	25	Amaral, 1986	*
<i>Tabebuia cassinoides</i>	Bignoniaceae	30 25, 30	Ramos e Bianchetti, 1984 Nogueira <i>et al.</i> , 1995	*
<i>Tabebuia chrysotricha</i>	Bignoniaceae	25	Amaral, 1986	*
<i>Tabebuia pulcherrima</i>	Bignoniaceae	25	Amaral <i>et al.</i> , 1978	*
<i>Tibouchina benthamiana</i>	Melastomataceae	30	Andrade, 1995	*
<i>Tibouchina grandiflora</i>	Melastomataceae	30	Andrade, 1995	*
<i>Tibouchina moricandiana</i>	Melastomataceae	30	Andrade, 1995	*
<i>Trema micrantha</i>	Cannabaceae	20:30	Castellani <i>et al.</i> , 1997	*
<i>Triplaris surinamensis</i>	Polygonaceae	20,30	Silva e Matos, 1995	*
<i>Urena lobata</i>	Malvaceae	30	Figueiredo e Popinigis, 1980	*
<i>Vouacapoua palidor</i>	Fabaceae Caes.	25, 30, 35	Ferraz e Varela, 2003	

* baseado no levantamento de Miranda, 1998

Tabela 5.3. Características das sementes (ou da unidade de semente) e da germinação de 20 espécies tropicais com sementes que exigem luz para a germinação (sementes fotoblásticas positivas).

Espécie	Nome popular	Família	Massa de uma semente ou unidade de semente (g)		Tipo de germinação *	Fonte
			média (± desv pad)			
<i>Alseis blackiana</i>	NI	Rubiaceae	0,00012	NI	NI	Pearson <i>et al.</i> , 2002
<i>Aristolochia silvatica</i>	urubu-caá	Aristolochiaceae	0,00035	± 0,0004	P - E - F	Roeder, 2010
<i>Bellucia grossularioides</i>	goiaba-de-anta	Melastomataceae	0,00010	± 0,0000	P - E - F	Aud, 2008
<i>Byrsonima chrysophylla</i>	murici	Malpighiaceae	0,00017	± 0,0004	P - E - F	Aud, 2008
<i>Cecropia insignis</i>	imbaúba	Urticaceae	0,00068	NI	NI	Pearson <i>et al.</i> , 2002
<i>Cecropia obtusifolia</i>	imbaúba	Urticaceae	NI	NI	NI	Vázquez-Yanes, 1979
<i>Cecropia obtusifolia</i>	imbaúba	Urticaceae	0,00059	NI	NI	Pearson <i>et al.</i> , 2002
<i>Cecropia peltata</i>	imbaúba	Urticaceae	0,00058	NI	NI	Pearson <i>et al.</i> , 2002
<i>Cecropia sciadophylla</i>	imbaúba	Urticaceae	0,00011	± 0,0001	P - E - F	Aud, 2008
<i>Cissus sicyoides</i>	NI	Vitaceae	0,00031	± 0,0002	P - E - F	Roeder, 2010
<i>Croton lanjouwensis</i>	dima	Euphorbiaceae	0,00014	± 0,0004	P - E - F	Aud, 2008
<i>Iseria hypoleuca</i>	foguinho	Rubiaceae	0,00030	± 0,0000	P - E - F	Aud, 2008
<i>Jacaranda copaia</i>	caroba	Bignoniaceae	0,00065	± 0,0003	P - E - F	Aud, 2008
<i>Matelea badilloi</i>	NI	Apocynaceae	0,00016	± 0,0002	P - E - F	Roeder, 2010
<i>Miconia argentea</i>	buxixu	Melastomataceae	0,00008	NI	NI	Pearson <i>et al.</i> , 2002
<i>Piper dilatatum</i>	NI	Piperaceae	0,00010	NI	NI	Pearson <i>et al.</i> , 2002
<i>Piper peltatum</i>	NI	Piperaceae	0,00004	NI	NI	Pearson <i>et al.</i> , 2002
<i>Vismia cayennensis</i>	lacre	Hypericaceae	0,00040	± 0,0000	P - E - F	Aud, 2008
<i>Vismia guianensis</i>	lacre-branco	Hypericaceae	0,00002	NI	NI	Ludewigs, 1997
<i>Vismia japurensis</i>	lacre	Hypericaceae	0,00006	NI	NI	Ludewigs, 1997

* Classificação dos tipos de germinação: a primeira letra indica a exposição dos cotilédones, podendo ser criptocotiledonar (C) ou fanerocotiledonar (P). A segunda letra indica o alongamento do hipocótilo, podendo ser epígea (E) ou hipógea (H) e a terceira letra indica a classificação dos cotilédones em foliáceos (F) ou com reservas (R).

NI - Não Informado

Tabela 5.4. Tipo de germinação de 23 gêneros de monocotiledôneas, baseado na classificação de Garwood (2009).

Gênero	Família	Tipo de germinação *
<i>Ananas</i>	Bromeliaceae	H-S
<i>Astrocaryum</i>	Areacaceae	H-S
<i>Attalea</i>	Areacaceae	E-P
<i>Bactris</i>	Areacaceae	H-S
<i>Bromelia</i>	Bromeliaceae	H-S
<i>Cocus</i>	Areacaceae	H-S
<i>Dyckia</i>	Bromeliaceae	E-F
<i>Elaeis</i>	Areacaceae	H-S
<i>Euterpe</i>	Areacaceae	H-S
<i>Geonoma</i>	Areacaceae	H-S
<i>Leopoldina</i>	Areacaceae	H-S
<i>Lindmania</i>	Bromeliaceae	E-F
<i>Manicaria</i>	Areacaceae	H-S
<i>Mauritia</i>	Areacaceae	H-S
<i>Oenocarpus</i>	Areacaceae	H-S
<i>Phytelephas</i>	Areacaceae	E-P
<i>Renealmia</i>	Zingiberaceae	H-S
<i>Ruppia</i>	Ruppiaceae	E-F
<i>Smilax</i>	Smilacaceae	H-S
<i>Socratea</i>	Areacaceae	H-S
<i>Strelitzia</i>	Strelitziaceae	H-S
<i>Syagrus</i>	Areacaceae	H-S
<i>Vellozia</i>	Velloziaceae	H-S

* H-S: Hipógea-Séssil; E-P: Epígea-Peciolata, E-F: Epígea-Foliácea.

Figura 5.1. Indicação da temperatura mais adequada para o teste de germinação de 86 espécies florestais sub-tropicais e tropicais, baseada na Tabela 5.2, excluindo as espécies com recomendação somente de temperaturas alternadas. Quando, mais que uma temperatura foi recomendada, optou-se pela média, ou a primeira abaixo da média. Exemplo 1: Temperaturas recomendadas: 25, 30 e 35°C = > Temperatura selecionada: 30°C. Exemplo 2: Temperaturas recomendadas: 20 e 25°C = > Temperatura selecionada: 20°C.

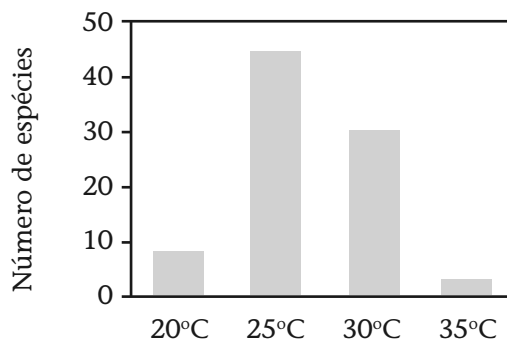
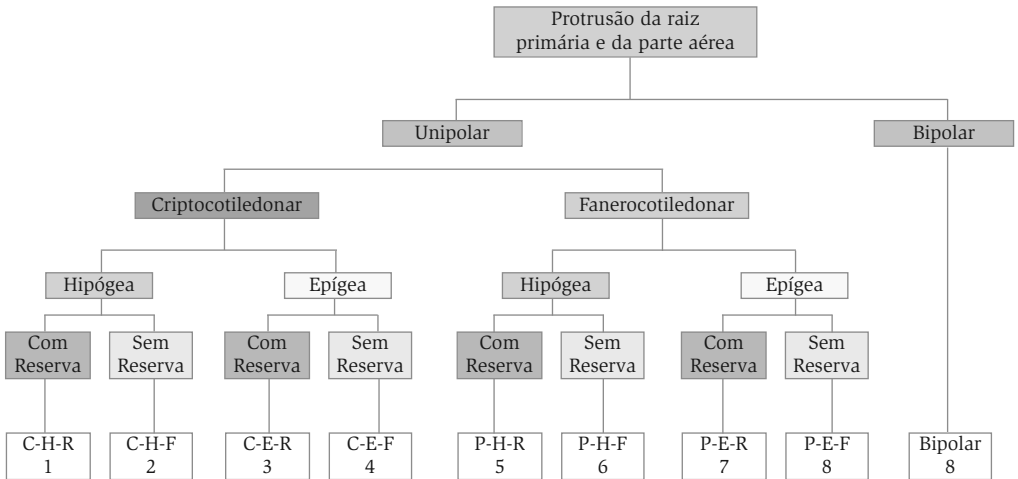


Figura 5.2. Classificação dos nove tipos de germinação encontrados em dicotiledôneas tropicais. Nas abreviações, a primeira letra indica a exposição dos cotilédones, podendo ser criptocotiledonar (C) ou fanerocotiledonar (P). A segunda letra indica o alongamento do hipocótilo, podendo ser epígea (E) ou hipógea (H) e a terceira letra indica a classificação dos cotilédones em foliáceos (F) ou com reservas (R). O termo “Bipolar” indica que a protrusão da raiz e da parte aérea ocorre em pólos opostos da semente. Exemplos podem ser encontrados nas Tabelas 5.1 e 5.3.



Capítulo 6

Determinações adicionais

Lima Jr., M.J.V., Figliolia, M.B., Piña-Rodrigues, F.C.M.;
Gentil, D.F.O.; Souza, M.M.; Silva, V.S.

6.1 Introdução

A qualidade da semente é avaliada por um conjunto de índices determinados por análises. Como determinações adicionais são designadas as análises que contribuem para fornecer outras informações sobre a qualidade do lote. De todas estas determinações, a mais importante para espécies florestais é o peso de mil sementes.

6.2 Peso de mil sementes [1]

O peso de mil sementes é em geral utilizado para calcular a densidade de semeadura e o peso da amostra de trabalho, para a análise de pureza. É um dado que está diretamente relacionado com a qualidade das sementes, assim como de seu estado de maturidade e sanidade. O peso de mil sementes também é influenciado pelo grau de umidade.

A amostra de trabalho para essa determinação é toda a



semente pura, proveniente da análise de pureza ou consiste de, no mínimo, oito subamostras de 100 sementes provenientes da porção semente pura.

A amostra de trabalho é pesada em gramas, com o mesmo número de casas decimais indicadas para análise de pureza. Contam-se ao acaso, manualmente ou com auxílio de contadores mecânicos, oito subamostras de 100 sementes cada. Em seguida, pesam-se essas subamostras com o mesmo número de casas decimais utilizadas na análise de pureza.

6.3 Cálculos e informação do resultado

Quando o peso foi obtido com oito repetições ou subamostras de 100 sementes, calcula-se a variância, o desvio padrão e o coeficiente de variação dos valores obtidos na pesagem da seguinte maneira:

$$\text{Variância} = \frac{n(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}{n(n-1)}, \text{ onde}$$

x = peso de cada subamostra de 100 sementes;

n = número de amostras (oito)

$$\text{Desvio padrão (s)} = \sqrt{\text{variância}}$$

$$\text{Coeficiente de variação} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100, \text{ onde}$$

\bar{x} = peso de 100 sementes.

Se o coeficiente de variação não exceder a 6% para palhetas ou 4% para as outras sementes, o resultado da determinação poderá ser calculado multiplicando-se por 10 o peso médio obtido das subamostras de 100 sementes.

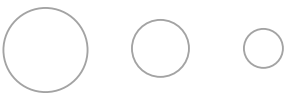
Se o coeficiente de variação exceder os limites já mencionados, outras oito subamostras de 100 sementes deverão ser contadas e pesadas; logo após, calcula-se o desvio padrão das 16 repetições. Desprezam-se todas as que apresentam uma divergência da média maior do que o dobro do desvio padrão obtido. Multiplica-se por 10 o

peso obtido entre as demais subamostras de 100 sementes, sendo este o resultado do teste.

O resultado será expresso em gramas com o número de casas decimais correspondente às utilizadas nas pesagens fazendo-se a devida aproximação no final.

6.4 Referências bibliográficas

1 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p.



Limpeza de materiais, equipamentos e instalações do laboratório de análise de sementes

Gentil, D.F.O.

7.1 Introdução

A disseminação de microrganismos no Laboratório de Análise é feita através do ar, água, solo, materiais, pessoas e sementes. Caso existam condições favoráveis, ocorre a colonização e o estabelecimento desses seres no ambiente, ficando suspensos no ar, depositados sobre as superfícies e contaminando/infectando sementes.

Alguns microrganismos, como os dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Trichoderma*, podem interferir na execução das análises e na obtenção de resultados confiáveis [21]. Os testes baseados na avaliação de plântulas podem ser prejudicados, pois as condições necessárias à germinação de sementes também favorecem o desenvolvimento de microrganismos, promovendo o desencadeamento de doenças [25]. Com isso, os testes



que apresentarem resultados duvidosos deverão ser repetidos [5].

Para evitar que esses microrganismos indesejáveis afetem o andamento das análises no laboratório, é imprescindível eliminar ou reduzir as fontes de inóculo no local, o que pode ser conseguido com a adoção de procedimentos de limpeza.

Na limpeza, devem ser considerados os custos, a eficiência de operacionalização e o padrão de qualidade dos procedimentos a serem adotados, além de visar o aumento no tempo de vida útil dos materiais, equipamentos e instalações [6]. Os procedimentos de limpeza mais empregados são descritos abaixo. As etapas estão ordenadas didaticamente, para facilitar o entendimento. Na prática, entretanto, a escolha e ordenação das etapas devem ser baseadas no grau de sujeira da superfície e no objeto da ação de limpeza.

7.2 Pré-Lavagem

A presença de detritos num material protege os microrganismos do contato indispensável com o agente desinfetante ou esterilizante [3]. Por isso, é necessário eliminá-los através da pré-lavagem, que consiste na fricção com esponja, pano ou escova, sob água limpa e corrente.

7.3 Lavagem

É a retirada da sujeira de qualquer superfície. Consta na fricção com esponja, pano ou escova, utilizando água limpa e um detergente tensoativo, que pode ser o sabão [6]. O efeito desinfetante dos sabões aumenta com a elevação da temperatura [1]. Dessa forma, é recomendável utilizar água ligeiramente aquecida, em torno de 38 a 46°C, nas lavagens [17].

Artigos metálicos, plásticos e de vidro devem ser cuidadosamente lavados [5]. Equipamentos, como germinadores, além de bancadas e pias, devem receber o mesmo tratamento.

7.4 Descontaminação

É a eliminação total ou parcial da carga microbiana presente em materiais, tornando-os aptos para o manuseio seguro. Corresponde à imersão completa de materiais em solução desinfetante, acompanhada ou não de fricção com escova ou esponja. A descontaminação é realizada com frequência em artigos plásticos ou de vidro, através de solução de hipoclorito de sódio com 1% de cloro ativo, por 30 minutos [6], ou de detergente em pó, por uma hora.

7.5 Enxágue

É realizado com água limpa e corrente, para eliminar os resíduos do desinfetante usado na lavagem e/ou na descontaminação [6]. Em algumas situações, costuma-se fazer um novo enxágue com água destilada, uma vez que a mesma não apresenta condições para sobrevivência e desenvolvimento de certos microrganismos [19].

7.6 Secagem

Objetiva eliminar a interferência da umidade nos produtos e métodos da limpeza em curso. Em materiais pode ser feita com pano limpo e seco [6] ou em estufa a 40°C. Conforme o destino, os materiais podem ser estocados ou submetidos à desinfecção ou à esterilização. Os equipamentos e instalações devem ser secados com pano

limpo e seco, sendo posteriormente desinfetados.

7.7 Desinfecção

É um processo encaminhado a destruir microrganismos patogênicos. Portanto, não implica na eliminação de todos os microrganismos vivos presentes numa superfície. A destruição de microrganismos patogênicos pode ser alcançada com o uso de produtos químicos, denominados desinfetantes, os quais podem ser eficazes contra alguns tipos de microrganismos. Para designar esta especificidade dos produtos empregam-se os termos bactericida, fungicida, dentre outros [29].

Quando se utilizam desinfetantes no controle de microrganismos, alguns fatores importantes devem ser considerados: **concentração** - quanto mais concentrado o produto, mais efetiva será sua ação. Há, contudo, um limite mínimo de concentração, abaixo do qual a ação do desinfetante é nula, podendo até estimular o desenvolvimento dos microrganismos. Por isso, nas instruções de práticas de desinfecção é preciso definir a concentração do produto químico que será usado; **tempo de ação** - desenvolve-se em duas fases: a primeira é a de fixação, que atua impedindo a multiplicação microbiana e pode ser anulada por lavagem ou neutralização química; a segunda é a de destruição do protoplasma microbiano, por coagulação dos colóides celulares, que é irreversível. Logo, fica evidenciado que nenhum desinfetante atua de maneira instantânea; por isso, o tempo de ação somente deve ser considerado a partir do momento em que a superfície a desinfetar esteja completamente recoberta pelo produto químico; **temperatura** - a eficácia dos desinfetantes aumenta com a elevação da temperatura, podendo-se usá-los mais diluídos para uma mesma condição, desde que a temperatura seja elevada. Isso se deve à aceleração das reações químicas pelo calor; **matéria orgânica** - a presença de matéria orgânica pode modificar profundamente

a ação de um desinfetante, sendo provável que este se desgaste atacando a matéria orgânica ao invés das células microbianas. Por isso, é essencial reduzir a matéria orgânica presente nas superfícies antes do emprego de produtos químicos [9; 20; 29].

Os desinfetantes afetam as células microbianas de diferentes modos: **coagulando e desnaturando as proteínas** - muitas proteínas celulares são enzimáticas e encontram-se na forma de dispersão coloidal fina. Se ocorrer a coagulação ou a desnaturação, elas perdem sua capacidade funcional e a célula morre; **desorganizando a membrana celular** - as substâncias químicas podem alterar as propriedades físicas e químicas da membrana celular, impedindo o seu funcionamento normal. Com isso, pode ocorrer a perda de protoplasma para o meio externo e a entrada de substâncias nocivas para o meio interno, resultando na inibição da célula ou em sua morte; **como antagonista químico** - as enzimas têm função catalítica em virtude de sua afinidade com seus substratos naturais. Se estruturalmente um dado composto se assemelha a um substrato nos aspectos principais, a enzima terá afinidade por este composto. Se a afinidade for suficientemente intensa, o composto tomará o lugar do substrato natural e impedirá os processos normais de produção de energia ou dificultará os processos biossintéticos essenciais, inibindo como consequência a reprodução da célula [1; 8; 20].

Apesar de não existir um desinfetante ideal, a seguir são citadas as características que os produtos deveriam apresentar: amplo espectro de ação, destruindo todos os microrganismos num período relativamente curto; alta estabilidade, conservando sua ação plena, inclusive, durante sua exposição ao ar e a temperaturas elevadas; alto poder de penetração; alta solubilidade em água, em qualquer concentração, para constituir soluções ou emulsões permanentes; poder específico suficientemente elevado, que permita seu uso em grandes diluições; poder de dissolver graxas; não ser corrosivo e não ter ação descolorante; ter ação desodorante; carecer de pro-

priedades tóxicas quando ingerido ou inalado pelo homem; ser de baixo custo, abundante e de fácil aplicação [7; 9; 29].

Os desinfetantes mais usados no laboratório são:

a) **Detergentes tensoativos:** possuem a propriedade de desorganizar a membrana da célula microbiana ou de atuar como antagonista químico [1; 20]. Têm a finalidade de limpar superfícies, pela umectação, dispersão, suspensão e emulsão das substâncias orgânicas [15]. São usados com frequência na desinfecção de materiais, equipamentos e instalações.

Esses compostos são classificados em:

Não iônicos: o poder bactericida é baixo ou nulo e, ainda, podem inibir o efeito de outros compostos [29]. Ademais, não são biodegradáveis [17].

Aniônicos, cuja ação detergente reside no íon de carga negativa: fazem parte desse grupo os sabões, os detergentes sulfonados e os sulfonatos, os quais apresentam acentuada propriedade desengordurante [19; 29]. São empregados nas lavagens e/ou descontaminações.

Os sabões são sais de sódio e potássio de ácidos graxos [29]. Sua importância é devida, sobretudo, à redução do número de microrganismos, por sua ação em si e à eliminação mecânica que acompanha a lavagem. Consegue-se, assim, diminuir a população de microrganismos e auxiliar outros meios para eliminá-la totalmente [20]. Os compostos sulfonados e sulfonatos possuem boas características detergentes, sendo estes últimos os principais tensoativos utilizados [11]. No Brasil, o sulfonato de sódio do alquilbenzeno linear (LASNa) é praticamente o único tensoativo empregado nas formulações de detergentes. Seu teor nos detergentes em pó varia de 12 a 24% e nos líquidos de 4 a 10% [27].

Catiônicos, cuja ação detergente reside no íon de carga positiva: são compostos eficientes como germicidas, mas fracos como detergentes [17]. Possuem alto poder bactericida e fungicida, porém apresentam as desvantagens de não agirem sobre esporos e serem pouco ativos

contra vírus. São de baixa toxicidade e muito bem tolerados pela pele [18; 19]. Os mais importantes são os compostos quaternários de amônio, caracterizados pela ligação de um átomo de nitrogênio a quatro radicais, geralmente orgânicos, um dos quais de cadeia longa [23]. Como exemplos de princípios ativos de quaternários de amônio seguem: cloreto de alquil dimetil benzil amônio, cloreto de alquil dimetil etilbenzil amônio, cloreto de alquil dimetil etiltoluil amônio, cloreto de lauril piridínio, cloreto e brometo de cetil trimetil amônio e cloreto de alquil trimetil amônio [4]. São aplicados em pano embebido, com fricção sobre as superfícies. Porém, não devem ser usados após lavagens realizadas com detergentes aniônicos, uma vez que são incompatíveis [15].

b) Compostos inorgânicos liberadores de cloro ativo: são eficazes somente quando emitem cloro livre. Quanto mais instável é um composto de cloro, mais rapidamente se manifesta sua eficácia e mais intensa será sua ação [29]. Um composto de cloro muito utilizado em limpeza é o hipoclorito de sódio (NaClO), que pode ser encontrado na forma comercial de água sanitária. Atua desnaturando as proteínas das células microbianas [8], especialmente de bactérias, fungos, vírus e esporos [18]. O hipoclorito de sódio, com 1% de cloro ativo, pode ser aplicado por dez minutos visando à desinfecção de equipamentos e instalações [6], com o auxílio de um pano. O uso dos compostos de cloro é limitado por sua decomposição rápida, pela capacidade corrosiva e descolorante e por irritar a pele e a mucosa. Não são indicados, inclusive, em aplicações sobre metais [2; 6; 29].

c) Álcool etílico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$): tem elevada atividade desinfetante, baixo custo e baixa toxicidade, sendo o mais empregado no controle de microrganismos [6; 29]. Atua coagulando e desnaturando as proteínas, tendo também a propriedade de dissolver lipídios [1; 23; 29]. Apresenta boa ação sobre fungos, vírus e bactérias; entretanto, não age sobre esporos [19; 23].

A água facilita a ação do álcool. Por isso, o álcool



absoluto, que não contém água, é menos eficaz que as soluções aquosas de álcool a 70, 80 ou 95%. Se a superfície a desinfetar está ressecada, será mais eficaz o álcool a 70% que a 95%; se está úmida, o álcool a 95% destruirá os microrganismos com mais rapidez [29]. Entretanto, as soluções com concentrações inferiores a 10%, praticamente, não têm ação desinfetante [20]. O álcool é utilizado na desinfecção periódica de artigos metálicos, plásticos e de vidro, bancadas e equipamentos [5; 6]. A aplicação é feita com pano ou papel toalha embebido, podendo ser usado um borrifador para atingir os cantos mais difíceis. O álcool é volátil e de ação rápida; além do mais, é inflamável e seu uso constante provoca o ressecamento da pele [29].

d) Formalina (formol): é uma solução de 40% de formaldeído (HCHO) gasoso em água, que atua inativando um grande número de enzimas e também coagulando e desnaturando as proteínas das células microbianas [20; 29]. Em soluções concentradas, apresentam um amplo espectro germicida, atingindo formas vegetativas de bactérias, fungos e vírus e muitos esporos [18]. O poder desinfetante aumenta com a elevação da temperatura [29], porém diminui quando usado em solução com álcool [1].

Artigos metálicos podem ser desinfetados com formol [6]. A desinfecção de germinadores pode ser feita na concentração de 0,5% [5]. A operação consiste em friccionar, com pano embebido em solução, a superfície do equipamento, que em seguida é mantido fechado por quatro a seis horas, para aumentar a eficiência do tratamento. Este tempo poderá ser reduzido, se o germinador for aquecido sem água. Outro modo de desinfetar germinadores consiste em colocar uma placa de Petri com algumas gotas de formol a 0,5% dentro do equipamento e deixá-lo fechado por uma noite [10]. Antes de ser reutilizado, o germinador deve permanecer aberto até que os vapores tóxicos sejam eliminados totalmente.

O formol não reage com metais, é volátil e consti-

tui-se num autêntico inibidor de odores [2; 29]. Apresenta alta toxicidade, que produz efeito necrótico nos tecidos, exceto em concentrações muito baixas. Seus vapores penetrantes são irritantes à mucosa nasal e faríngea, com comprovado potencial carcinogênico, o que impossibilita o seu uso frequente [6; 12; 29].

7.8 Esterilização

Consiste na destruição completa de todos os microrganismos presentes na superfície de qualquer material. Logo, um material considerado estéril é aquele plenamente isento de microrganismos vivos [29]. Pode ser alcançada por meio de diferentes agentes físicos. Os que utilizam calor são os mais frequentemente utilizados, devido ao seu baixo custo, ao fácil controle e por não deixar resíduos tóxicos [18; 29].

Alguns fatores importantes devem ser considerados quando se objetiva a eliminação dos microrganismos pelo calor: **intensidade do agente físico usado** - entre as instruções para o emprego de métodos de esterilização é preciso incluir o grau de calor que deverá ser mantido. Pois, é muito provável que sobrevivam alguns dos microrganismos que se pretendia destruir, quando se adotam temperaturas mais baixas. Por outro lado, as temperaturas mais elevadas são naturalmente prejudiciais a muitos materiais, o que inviabiliza a sua adoção; **tempo de ação** - nenhum agente esterilizante atua de maneira instantânea: sempre é requerido um período para se conseguir a destruição dos microrganismos. Assim, quando se emprega calor, o período de exposição se inicia a partir do momento em que é atingido o grau de temperatura desejado [29].

O calor pode ser aplicado de diferentes maneiras no laboratório:

a) **Fogo direto**: o ato de aquecer diretamente os materiais contaminados numa chama é um método fácil

e eficaz de destruição de microrganismos indesejáveis. Porém, é evidente que só poderá ser adotado se o material a esterilizar for resistente ao fogo, que atua oxidando os componentes das células microbianas [29]. É obtido através de um bico aquecedor conectado a uma fonte de gás, denominado bico de Bunsen, ou por meio de uma lamparina a álcool. Correntemente, é empregado na flambagem de artigos metálicos, antes e depois de serem utilizados, que são submetidos até adquirirem uma coloração vermelho intenso, tendo a precaução de deixá-los esfriar para poder usá-los [13]. Pode ser utilizado em extremidades de alguns artigos de vidro, no momento do uso, sem deixar que atinjam a coloração vermelha [13]. Não se recomenda a prática de submergir os artigos em álcool para passá-los posteriormente pela chama, já que a superfície do instrumento não aquecerá o suficiente, por estar coberta por uma capa de álcool vaporizado. Objetos cortantes não devem ser submetidos ao fogo direto, pois ocorre a deterioração do seu fio [29]. A instalação e avaliação de testes de germinação devem ser realizadas próximas a uma chama de bico de Bunsen ou lamparina, a fim de evitar a contaminação do substrato e/ou a disseminação de esporos no ambiente [21].

b) Calor seco (ar quente): o princípio que rege a ação do calor seco como agente físico de esterilização é a condução. A condução é a transmissão do calor por contato íntimo de uma parte a outra de um mesmo corpo, ou de um corpo a outro, sem deslocamento apreciável de partículas [15]. O calor seco não é um método eficaz de esterilização, pois o ar é um mal condutor de calor e apresenta um menor poder de penetração. Logo, o grau de temperatura e o tempo de exposição necessários à esterilização, por este procedimento, são maiores que os requeridos para se chegar ao mesmo resultado com o calor úmido [1; 29]. As bactérias, por exemplo, sobretudo as que se encontram sob a forma de esporos são muito resistentes ao calor seco [12].

Para aproveitar o poder esterilizante do calor seco,

que elimina os microrganismos por desidratação e oxidação dos componentes celulares, é necessário valer-se de certos equipamentos conhecidos como estufas [23]. A estufa de ar quente é um recipiente retangular de paredes duplas, isoladas termicamente e aquecida à eletricidade. No seu interior há prateleiras móveis; na parte superior, orifícios para ventilação e um orifício onde se coloca um termômetro graduado, caso não venha acoplado no equipamento [3]. A esterilização pelo calor seco é recomendada para objetos sólidos feitos de material termoestável, isto é, todos os artigos que o calor não destrua, como os metálicos e alguns de vidro [24]. São adotados diferentes graus de temperatura e períodos de exposição, como: 150°C por três horas, que parece ser a temperatura mínima praticada [12]; 160°C por uma hora a uma hora e 30 minutos [1]; e 170°C por uma a duas horas, que é a temperatura mais digna de confiança [12; 29]. Entretanto, deve-se evitar que a temperatura ultrapasse os 180°C, pois pode ocasionar o chamuscamento dos tampões de algodão e/ou a alteração dos materiais que a ela estão submetidos [20; 22].

Os substratos para o teste de germinação também podem ser esterilizados em estufas de ar quente. Assim, temos as seguintes recomendações: papel - 105°C por duas horas [5]; carvão - 105°C por quatro horas; areia - 105°C por quatro horas [14] ou 200°C por duas horas [5]; vermiculita - 105°C por duas a quatro horas [21].

Na sequência, são apresentados os procedimentos básicos de esterilização em estufa de ar quente que, apesar de não serem complexos, requerem muita atenção:

i) a esterilização, geralmente, é um processo preparatório que visa à disponibilidade de materiais para uso imediato e, por isso, deve incluir meios para mantê-los estéreis até o momento de sua utilização. Portanto, é indispensável o acondicionamento dos artigos, antes de serem colocados na estufa [29]. O papel manilha, de alumínio e o algodão são recomendados à vedação dos materiais [28];

ii) os materiais devem ser introduzidos na estufa, evitando o contato com as paredes internas do equipamento e distribuídos de modo a permitir a circulação do ar, assegurando assim um recebimento regular de calor [1; 13];

iii) a estufa é fechada e conectada à tomada elétrica de mesma voltagem;

iv) a energia é ligada e o termostato regulado à temperatura desejada;

v) pelo termômetro é observado o momento em que a temperatura atinge o grau adequado à esterilização, considerando a partir dele o tempo de ação necessário;

vi) ao final do período de esterilização, o termostato é regulado ao ponto inicial, a energia é desligada e a estufa desconectada da tomada elétrica;

vii) antes de abrir a estufa deve-se esperar que esfrie por um período de uma ou duas horas ou até que a temperatura tenha descido a 100°C ou menos, já que um esfriamento rápido dos artigos de vidro poderá causar-lhes roturas [1; 8; 28]. Caso os vidros estejam quentes, recomenda-se não colocá-los sobre superfícies frias, o que lhes provocaria alterações, ou em local onde alguém possa pegá-los inadvertidamente, uma vez que o vidro quente tem o mesmo aspecto do frio [20].

c) Calor úmido sob pressão (vapor a pressão): se os materiais a esterilizar forem termo-resistentes, poderão ser submetidos ao vapor a pressão em autoclave, que apresenta como vantagens a facilidade operacional e a redução nos custos, além de ser o método mais eficaz de esterilização [6]. O mecanismo de esterilização pelo vapor a pressão está relacionado com o calor latente. Pois, o vapor ao entrar em contato com a superfície fria do material se condensa, liberando o calor latente. Após a condensação do vapor, devido à elevada temperatura, a água voltará ao estado gasoso e o calor latente será novamente absorvido a fim de possibilitar a mudança de estado. Essa troca entre o meio e o material é a base da esterilização [15]. O vapor a pressão destrói os microrganismos por

quebrar as ligações químicas envolvidas na manutenção da conformação espacial das proteínas, causando coagulação [23]. É especialmente dirigido à eliminação de esporos [20].

A autoclave (modelo vertical) é uma caldeira cilíndrica de cobre ou outro metal resistente, cuja espessura da parede depende da pressão máxima que o equipamento pode suportar; correntemente esta espessura é de 1,5 a 2,0 cm. A tampa de bronze batido veda perfeitamente, devido à interposição de uma guarnição de borracha e a oito ou dez parafusos que se apertam facilmente. No interior da caldeira existe um suporte sobre o qual se coloca uma cesta metálica contendo o material a esterilizar. Entre o fundo da cesta metálica e o fundo ligeiramente côncavo da caldeira fica um espaço que se enche de água. A tampa possui um orifício de escapamento, uma válvula de segurança e um manômetro com duas escalas, correspondentes a pressão e a temperatura, além de uma indicação em vermelho da pressão máxima que está calculada a resistência do equipamento. Algumas autoclaves têm em sua lateral um tubo indicador do nível da água que se encontra no interior da caldeira. A água no interior do equipamento é aquecida por meio de gás, eletricidade ou mediante a passagem de uma corrente de vapor através de serpentina submersa na água [1; 2; 13; 20]. O funcionamento da autoclave é baseado no seguinte princípio: a água, ao ser aquecida em recipiente fechado, pode atingir temperaturas muito elevadas sem ferver; o vapor é retido sob pressão [2], que pode alcançar até 6 atmosferas ou mais sobre a normal, segundo a resistência do modelo empregado [13].

De maneira geral, a esterilização em autoclave é realizada a 120°C de temperatura e 1 atm de pressão. O período de exposição ao vapor a pressão para artigos metálicos e de vidro, água destilada, soluções e meios de cultura é de 15-20 minutos [22; 26]; para a areia, solo e vermiculita varia entre 30 minutos a duas horas [21; 26].

Os operadores da autoclave devem familiarizar-se

com seu funcionamento e manejo, inclusive com as instruções fornecidas pelo fabricante. Quando se tem no cargo um novo operador, este deve primeiramente observar como executa a tarefa uma pessoa experiente, para depois atuar ele mesmo, pelo menos uma vez, sob supervisão [29].

A seguir, são relacionados os procedimentos básicos que devem ser observados em uma unidade controlada manualmente:

i) colocar água no interior da caldeira, verificando o nível pelo tubo indicador externo;

ii) acondicionar adequadamente o material a ser esterilizado, com papel manilha e/ou tampões de algodão.

O papel manilha deverá ser de cor natural, para não manchar os materiais e nem deixar resíduos tóxicos. Os tampões de algodão devem ficar suficientemente apertados e não podem se desfazer ao serem retirados. O papel de alumínio é inadequado para acondicionar os materiais que serão submetidos à esterilização em autoclave, pois não é permeável ao vapor;

iii) depositar o material na cesta metálica, distribuindo-os de modo a permitir a circulação do vapor sem obstáculos;

iv) averiguar se o orifício de escapamento está aberto;

v) verificar a válvula de segurança;

vi) adaptar a tampa e apertar os parafusos, assegurando o completo fechamento da autoclave;

vii) ligar a fonte de energia;

viii) permitir que o vapor saia de forma livre e contínua durante vários minutos, a fim de expulsar todo o ar do interior da autoclave. Pois, o ar remanescente pode interferir com a condensação do vapor formando um filme protetor ao redor do material, que torna deficiente a penetração do calor, ou misturando-se com a corrente de vapor, que proporciona um calor real indubitavelmente menor;

ix) fechar o orifício de escapamento;

x) quando atingir a pressão desejada, diminuir o fornecimento de calor, para manter constante a temperatura durante o tempo necessário. O operador deve ficar atento ao manômetro, por todo o período em que o equipamento estiver em funcionamento;

xi) após o tempo requerido à esterilização, desligar a fonte de energia;

xii) esperar esfriar o equipamento até que a pressão indicada no manômetro seja 0 atm. Esta precaução é fundamental, porque abrir a autoclave com alta pressão faria projetar a tampa ou o vapor superaquecido, com riscos ao operador;

xiii) abrir o orifício de escapamento lentamente e posteriormente a tampa;

xiv) retirar o material [1; 2; 3; 15; 16; 28; 29].

7.9 Considerações finais

O emprego de desinfetantes e métodos de esterilização requer o uso do equipamento de proteção individual (EPI) específico, conforme a natureza do risco que o pessoal de laboratório se expõe (Tabela 1). Um outro cuidado que deve ser tomado na utilização de desinfetantes é a verificação do prazo de validade, para evitar o uso de produtos inócuos.

Tabela 1. Desinfetantes e métodos de esterilização e respectivos equipamentos de proteção individual (EPIs) necessários.

Desinfetante/método de esterilização	EPI específico
Quaternários de amônio	luvas de borracha
Hipoclorito de sódio	luvas de borracha
Formaldeído	máscara com filtro químico, óculos, luvas de borracha e avental impermeável
Calor seco	luvas isolantes, com cano longo
Calor úmido sob pressão	luvas isolantes, com cano longo

Fonte: Brasil (1993).

Após submeter os materiais ao processamento mais adequado, deve-se estocá-los em local separado, limpo, seco e protegido de poeira [6].

No manuseio de materiais estéreis ou desinfetados, bem como na instalação e avaliação de testes, deve-se realizar a higienização das mãos e braços através de lavagem com detergente e desinfecção com álcool.

A limpeza do piso e bancadas do laboratório deve ser feita diariamente, enquanto dos materiais e equipamentos deve ser após o uso. Antes da instalação e avaliação de testes, recomenda-se a desinfecção das bancadas ou mesas de trabalho e dos materiais que serão usados.

7.10 Referências

- 1 BAKER, F.J. **Manual de técnica bacteriológica**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1970. 510p.
- 2 BIER, O. **Bacteriologia e imunologia: em suas aplicações à medicina e à higiene**. 13.ed. São Paulo: Melhoramentos, 1966. 971p.
- 3 BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de controle de infecção hospitalar**. Brasília: CCIH/MS, 1985. 123p.
- 4 BRASIL. Ministério da Saúde. Serviço Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria n.15**, de 23 de agosto de 1988.
- 5 BRASIL. Ministério da Saúde. **Processamento de artigos e superfícies em estabelecimentos de saúde**. Brasília: CCIH/MS, 1993. 32p.
- 6 BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

- 7 BRYAN, A.H.; BRYAN, C.A. & BRYAN, C.G. **Bacteriologia: principios y practicas**. Mexico: CECSA, 1978. 595p. (Serie Compendios Cientificos).
- 8 BURDON, K. & WILLIAMS, R.P. **Microbiología**. Mexico: Cultural, 1971. 822p.
- 9 FERRÉ, E. **Bacteriología**. 3.ed. Buenos Aires: Librería El Ateneo, 1959. 445p.
- 10 FIGLIOLIA, M.B.; OLIVEIRA, E.C. & PINÃ-RODRIGUES, F.C.M. Análise de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PINÃ-RODRIGUES, F.C.M. & FIGLIOLIA, M.B. (coord.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p.131-174.
- 11 GAVA, A.J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. 7.ed. São Paulo: Nobel, 1984. 284p.
- 12 GEBHARDT, L.P. **Microbiología**. 4.ed. Mexico: Interamericana, 1972. 380p.
- 13 IRIARTE Y SANCHIZ, E.G. **Microbiologia: tecnicas, controles e analisis clinicos**. Barcelona: Augusta, 1975. 687p.
- 14 JESUS, R.M. & PINÃ-RODRIGUES, F.C.M. Programa de produção e tecnologia de sementes de espécies florestais nativas desenvolvido pela Florestal Rio Doce S/A. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 1, Belo Horizonte, 1984. **Anais**. Brasília: ABRATES, 1985. p.59-83.
- 15 LACERDA, R.A. (coord.) **Buscando compreender a infecção hospitalar no paciente cirúrgico**. São Paulo: Atheneu, 1992. 177p.
- 16 LARPENT, J.P. & LARPENT-GOURGAUD, M. **Mi-**

crobiologia prática. São Paulo: Edgard Blücher/Universidade de São Paulo, 1975. 162p.

17 LEITÃO, M.F.F. Limpeza e desinfecção na indústria de alimentos. **Boletim do Instituto de tecnologia de Alimentos**, Campinas, n.43, p.1-35, 1975.

18 LIMA, L.P.C. Microbiologia. In: FERNANDES, J.F.; CARNEIRO, J. (ed.). **Ciências patológicas.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. p.17-23.

19 LUCAS, R.B. & KRAMER, I.R.H. **Bacteriologia: para estudantes de odontologia.** Rio de Janeiro: Científica, 1957. 267p.

20 PARAJE, R. & PARAJE, A.R. **Microbiologia clinica.** Buenos Aires: Panamericana, 1976. 511p.

21 PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. & VIEIRA, J.D. Teste de germinação. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. (coord.). **Manual de análise de sementes florestais.** Campinas: Fundação Cargill, 1988. p.70-90.

22 SALLE, A.J. **Bacteriología.** 2.ed. Barcelona: Gustavo Gili, 1960. 875p.

23 SILVA, N.P. Esterilização e desinfecção. In: TRABULSI, L.R. **Microbiologia.** 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1991. p.99-102. (Série Biomédica).

24 STANIER, R.Y.; DOUDOROFF, M.; ADELBERG, E.A. **Mundo dos micróbios.** São Paulo: Edgard Blücher, 1976. p.741.

25 TANAKA, M.A.S. Importância da utilização de sementes sadias. In: Sementes: tecnologia de produção. **Informe Agropecuário**, Belo Horiuzonte, v.8, n.91, p.31-34, 1982.

26 TANAKA, M.A.S. Técnicas auxiliares em laboratório de patologia de sementes. In: SOAVE, J. & WETZEL, M.M.V. (ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.313-328.

27 VALENTE, F.A. Detergentes: produtos de limpeza explodem no mercado. **Química e derivados**, São Paulo, v.32, n.346, p.14-19, 1997.

28 VINCENT, J.M. **Manual practico de rizobiologia**. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1975. p.1-3.

29 YOUNG, G.G. **Witton's microbiologia**. 3.ed. Mexico: Continental, 1964. p.123-169.