



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS E
AMBIENTAIS

**PADRÕES DE QUALIDADE FISIOLÓGICA E CONSERVAÇÃO DE
MATERIAL PROPAGATIVO DE *Handroanthus serratifolius* (Vahl.) S.O. Grose**

ISRAEL SILVA JUNIOR

MANAUS, AMAZONAS

2020

ISRAEL SILVA JUNIOR

**PADRÕES DE QUALIDADE FISIOLÓGICA E CONSERVAÇÃO DE
MATERIAL PROPAGATIVO DE *Handroanthus serratifolius* (Vahl.) S.O. Grose**

Orientador: Ph.D. Manuel de Jesus Vieira Lima Junior

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais (PPG-CIFA), da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Amazonas para a obtenção do Título de Mestre.

MANAUS, AMAZONAS

2020

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586c Silva Junior, Israel
Padrões de qualidade fisiológica e conservação de material propagativo de *Handroanthus serratifolius* (Vahl.) S.O.Grose / Israel Silva Junior . 2020
65 f.: il.; 31 cm.

Orientador: Manuel de Jesus Vieira Lima Junior
Orientadora: Maria Teresa Gomes Lopes
Coorientador: Marcelo Domingues Martins Raizer
Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Material Propagativo. 2. Otimização. 3. Conservação. 4. *Handroanthus*. I. Lima Junior, Manuel de Jesus Vieira. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título



Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais

ISRAEL SILVA JUNIOR

PADRÕES DE QUALIDADE FISIOLÓGICA E CONSERVAÇÃO DE MATERIAL PROPAGATIVO DE *Handroanthus serratifolius* (Vahl.)
S.O. Grose

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Florestais e Ambientais, área de concentração em Ciências Florestais e Ambientais.

Aprovada em 10 de setembro de 2020

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Manuel de Jesus Vieira Lima Junior
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Maria Teresa Gomes Lopes
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Marcelo Domingues Martins Raizer
Embrapa Amazônia Ocidental



Documento assinado eletronicamente por **Manuel de Jesus Vieira Lima Junior, Professor do Magistério Superior**, em 11/09/2020, às 11:34, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Teresa Gomes Lopes, Professor do Magistério Superior**, em 11/09/2020, às 12:20, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Domingues Martins Raizer, Usuário Externo**, em 11/09/2020, às 12:32, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Aos meus familiares, Nilce Pires e Israel Silva por me acompanharem durante minha trajetória acadêmica.
DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e a saúde.

Aos meus familiares, pai e mãe, Israel e Nilce, por me apoiarem financeiramente e psicologicamente, e aos outros membros por me proporcionarem apoio moral, como meus irmãos e minha cunhada, além de amigos próximos.

Aos discentes e amigos do curso de Engenharia Florestal da UFAM, Juvenal Santiago, Paulo Vinicius, Rimer Maduro, Sergio Vidal, Yago Souza, Carlos Coelho, Jardel Rodriguez, Emily Trovão, Jekiston Andrade, Vinicius Abdoral, Marcos e Rayssa, que de alguma forma apoiaram no desenvolvimento do trabalho, seja em apoio moral, financeiro, tecnológico ou braçal.

Ao Dr. Ricardo Lopes que coordenada o laboratório de Cultura de tecidos da Embrapa Ocidental apoiado pelo Dr. Marcelo Domingues Raizer, juntamente com seus colaboradores, que contribuíram nas coletas e desenvolvimento dos experimentos.

A Dra. Maria Teresa gomes Lopes que coordenada o laboratório de Melhoramento Genético, juntamente com seus colaboradores, que além de apoio com matérias e equipamentos, contribuiu tecnicamente com alternativas a serem seguidas na construção do trabalho.

Ao Dr. Manuel de Jesus Vieira Lima Junior, que além de ser meu orientador, me deu apoio tanto psicológico como financeiro algumas vezes, e contribui para a elaboração do trabalho como também sendo referência na área de sementes, sendo um exemplo pessoal e profissional, cedeu o laboratório que fica no Centro de Sementes Nativas do Amazonas para execução das análises de sementes.

Aos demais amigos, colegas e a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta etapa em minha vida.

RESUMO

As pressões antrópicas sobre as florestas naturais forçam a criação de protocolos de condução do reflorestamento, além de mecanismos para a conservação das espécies. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi demonstrar padrões de qualidade fisiológica para sementes de *Handroanthus serratifolius* e estimar a viabilidade polínica como alternativa para conservação. O estudo foi realizado com 20 lotes de sementes, coletados de 20 matrizes da espécie. Para caracterizar as matrizes, foi aferido o DAP, altura comercial, altura de copa e diâmetro de copa; e com os lotes de sementes foi determinado o teor de umidade, peso de mil sementes, biometria e as características de germinação. A partir dos dados coletados foi feita uma análise de variância entre os lotes, por variável no software Genes 6.1; uma matriz de correlação com as variáveis no software RStudio 3.5.0; uma análise dos componentes principais no software Past 4.02 e; determinado o coeficiente de repetibilidade com as variáveis biométricas no software Genes 6.1. Para estimativa do potencial polínico, foram coletadas flores de cinco indivíduos e em diferentes estágios florais para estimativa de pólen viável pelo teste colorimétrico com diferentes corantes: Tetrazólio, Azul de trypan e Cotton blue. Os pólenes também foram submetidos a testes germinativos com dois meios de culturas, um controle, a base de ágar e sacarose, e outro com adição de cálcio; outros três genótipos distintos foram coletados para se conhecer o ponto crítico para o armazenamento, onde estes foram armazenados em freezer a -20 °C e avaliados (fresco, após 1 mês, após 3 meses e após 6 meses), pelos testes colorimétricos e germinativos. Para esses testes, foram feitas análises de variância entre os genótipos, por variáveis no software Rbio. As matrizes mostraram diferenças entre si quando comparadas e dessa forma, foram divididas em grupos. O peso de mil sementes foi o que apresentou maior amplitude nos resultados. Na matriz de correlação, as características da árvore matriz não influenciaram no potencial fisiológico das sementes, porém, o peso de mil sementes foi fortemente correlacionado com as características biométricas, e com a formação de plântulas. A germinação (emissão de raiz) não apresentou correlação com nenhuma variável trabalhada; fato parecido com a resposta dos componentes principais, onde demonstrou que o peso de mil sementes e as características biométricas foram as variáveis que melhor explicaram o comportamento da população. O coeficiente de repetibilidade demonstrou que quatorze sementes são suficientes para caracterizar um lote. Em relação ao potencial polínico, tanto os corantes quanto os diferentes estágios florais não apresentaram diferenças entre si, e de maneira geral a porcentagem de pólen viável variou na faixa de 65 a 80%, já para os diferentes meios de cultura, a adição de cálcio mostrou um comportamento mais satisfatório quando comparado com o meio controle, chegando 30% de germinação em alguns casos, mas não demonstrou o potencial apresentado nos testes colorimétricos. Em relação ao armazenamento os pólenes que foram guardados em freezer perderam seu poder germinativo (potencial polínico), mas apresentaram alta porcentagem de pólen viável pelo método colorimétrico variando entre 80 a 90 %, não apresentando diferenças entre os períodos de tempo.

Palavras – chaves: matrizes superiores, viabilidade de sementes, viabilidade polínica.

ABSTRACT

Anthropic pressure on natural forests forces the creation of protocols to conduct reforestation, in addition to mechanisms for the conservation of species. Thus, the objective of this work was to demonstrate physiological quality standards for *Handroanthus serratifolius* seeds and to estimate pollen viability as an alternative for conservation. The study was carried out with 20 seed lots, collected from 20 matrices of the species. To characterize the matrices, DAP, commercial height, crown height and crown diameter were measured; and with the seed lots, the moisture content, weight of a thousand seeds, biometrics and germination characteristics were determined. From the collected data, an analysis of variance between lots was made, by variable in the Genes 6.1 software; a correlation matrix with the variables in RStudio 3.5.0 software; an analysis of the main components in the Past 4.02 software and; the repeatability coefficient was determined with the biometric variables in the Genes 6.1 software. To estimate the pollen potential, flowers were collected from five individuals and in different floral stages to estimate viable pollen by the colorimetric test with different dyes: Tetrazolium, Trypan blue and Cotton blue. The pollens were also submitted to germinative tests with two culture media, one control, based on agar and sucrose, and the other with added calcium; another three distinct genotypes were collected to find out the critical point for storage, where they were stored in a freezer at -20°C and evaluated (fresh, after 1 month, after 3 months and after 6 months), by colorimetric and germinative tests. For these tests, analyzes of variance between genotypes were made, using variables in the Rbio software. The matrices showed differences between them when compared and, thus, were divided into groups. The weight of a thousand seeds showed the greatest amplitude in the results. In the correlation matrix, the characteristics of the matrix tree did not influence the physiological potential of the seeds, however, the weight of a thousand seeds was strongly correlated with the biometric characteristics, and with the formation of seedlings. Germination (root emission) did not correlate with any variable worked; a fact similar to the response of the main components, where it demonstrated that the weight of a thousand seeds and the biometric characteristics were the variables that best explained the behavior of the population. The repeatability coefficient demonstrated that fourteen seeds are sufficient to characterize a batch. Regarding the pollen potential, both the dyes and the different floral stages did not present any differences, and in general the percentage of viable pollen varied in the range of 65 to 80%, for the different culture media, the addition of calcium showed a more satisfactory behavior when compared to the control medium, reaching 30% germination in some cases, but did not demonstrate the potential presented in the colorimetric tests. Regarding storage, pollens that were kept in a freezer lost their germinative power (pollen potential), but showed a high percentage of viable pollen by the colorimetric method ranging from 80 to 90%, with no differences between the periods of time.

Keywords: superior matrices, seed viability, pollen viability.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	10
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 GERAL	15
2.2 ESPECÍFICOS	15
CAPITULO 1:.....	16
Parâmetros de qualidade fisiológica para seleção de matrizes de <i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S. O. Grose	16
RESUMO	17
ABSTRACT	17
1.1 INTRODUÇÃO	18
1.2 MATERIAS E MÉTODOS	20
1.3 RESULTADOS	23
1.4 DISCUSSÃO	30
1.5 CONCLUSÃO	36
1.6 AGRADECIMENTOS	36
1.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
CAPÍTULO 2:.....	42
Estimativa de viabilidade polínica para conservação de pólen de <i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S. O. Grose	42
RESUMO	43
ABSTRACT	43
2.1 INTRODUÇÃO	44
2.2 MATERIAS E MÉTODOS	46
2.2.1 Material vegetal e local dos experimentos	46
2.2.2 Determinação da viabilidade de pólen.....	47
2.3 RESULTADOS	50
2.3.1 Viabilidade de pólen por métodos colorimétricos	50
2.3.2 Viabilidade de pólen por germinação in vitro	51
2.3.3 Viabilidade de pólen armazenado	52
2.4 DISCUSSÃO	53
2.4.1 Viabilidade de pólen por métodos colorimétricos	53
2.4.2 Viabilidade de pólen por germinação in vitro	54
2.4.3 Viabilidade de pólen armazenado	55
2.5 CONCLUSÃO	56
2.6 AGRADECIMENTOS	56
2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapa de localização das matrizes no município de Apuí, AM.....	22
Figura 2: Teores de água entre as matrizes selecionadas.....	25
Figura 3: Matriz de correlação testada a um nível de significância de 0,05.....	29
Figura 4: Agrupamento das variáveis com os melhores valores por componentes apresentado.....	30
Figura 5: Estágios florais: broto, flor fechada e flor aberta de <i>H. serratifolius</i>	49
Figura 6: Comparação visual entre os corantes: (A) Cotton blue, (B) Azul de trypan e (C) Tretazólio.....	56

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Dados dendrométricos de 20 matrizes de <i>H. serratifolius</i>	24
Tabela 2: Matriz resposta do peso de mil sementes com a biometria de sementes de 20 matrizes de <i>H. serratifolius</i>	25
Tabela 3: Características germinativas de sementes de 20 matrizes de <i>H. serratifolius</i>	26
Tabela 4: Agrupamento das matrizes com características superiores.....	27
Tabela 5: Valores de W por variável e seus respectivos valores de p pelo Shapiro test.....	28
Tabela 6: Coeficientes de correlação dos componentes principais por meio de análise multivariada.....	29
Tabela 7: Determinação do coeficiente de repetibilidade para as variáveis biométricas.....	31
Tabela 8: Coordenadas geográficas dos genótipos coletados para os experimentos de determinação das metodologias para estudo da viabilidade de pólen direta e indireta.....	48
Tabela 9: Coordenadas geográficas dos genótipos utilizados para o estudo de viabilidade de pólen armazenado.....	50
Tabela 10: Análise de variância com 3 métodos colorimétricos e três estágios florais, com 5 repetições.....	53
Tabela 11: Valore médios de viabilidade polínica de cinco genótipos de <i>Handroanthus serratifolius</i> usando os métodos de coloração (Cotton blue, Azul de trypan e Tetrazólio) em diferentes estágios florais: flor aberta, flor fechada e broto.....	53

Tabela 12: Análise de comparações múltiplas com delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com dois tratamentos (meios de cultura sem cálcio e com cálcio) e com repetições.....54

Tabela 13: Análise de variância pelo delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos (0, 1, 3 e 6 meses de armazenamento), com 3 repetições (3 árvores)55

Tabela 14: Médias de viabilidade de pólen de três genótipos de *Handroanthus serratifolius* usando o método de coloração Cotton Blue em 4 períodos de armazenamento: zero (momento da coleta), um, três e seis meses.....55

1. INTRODUÇÃO GERAL

A corrida contra o desmatamento parece uma história sem fim, pois mesmo olhando o histórico dos últimos dez anos, para a floresta Amazônica, onde a média anual se deu em 6.791 Km², bem abaixo dos picos históricos de 1995 e 2004, de 29.1 e 27.8 Km², respectivamente, mas no último ano houve um aumento de 30% em relação a esse valor médio onde o desmatamento chegou em 9.762 Km² (INPE, 2019).

Muito se justifica, pelas diversas partes, a falta de fiscalização e recursos por parte do governo, mas é mutuo o entendimento que o país tem o cronograma a seguir junto a Política Nacional sobre Mudança do Clima, lei nº 12.187/2009 (BRASIL, 2009a) onde se propôs a reduzir o desmatamento e suas emissões com resposta para 2020.

Mas ao mesmo tempo que se pensa em combater a perda da biodiversidade, reflete-se a recuperação de áreas degradadas, e para isso a restituição da diversidade biológica por meio do reflorestamento é o caminho que se tem tomado para recuperar a dinâmica florestal. De acordo com o relatório da Indústria Brasileira de Árvores (2019) a área plantada no ano de 2018 foi de 7,83 milhões de hectares, sendo em 7,3 milhões de hectares voltados para pinus e eucalipto enquanto seringueira, acácia, teca e paricá, representam cerca de 590 mil hectares.

Porém, um país diverso em biomas e com uma heterogeneidade biológica e riqueza em espécies florestais, ainda trabalhamos com um número insignificante frente a diversidade existente, pois se olharmos o bioma Amazônico, Ter Steege et al. (2013) apontam que a Amazônia possui uma biodiversidade por volta de 16 mil espécies arbóreas, onde apenas 1492 são cultivadas, isso nos remete a infinitas possibilidades do aumento da biodiversidade de espécies nos programas de reflorestamento.

Entretanto, a eficiência no estabelecimento dos plantios e produção de mudas vai muito além da escolha da espécie de interesse, mas depende principalmente da viabilidade do material genético, onde as sementes ainda são a principal influência na propagação de espécies vegetais (Carvalho et al., 2012), preponderando para as espécies florestais nativas.

Diante disso, quando tratamos de viabilidade o entendimento é sobre qualidade fisiológica, onde essa é comumente avaliada por testes de germinação expressando o vigor dos lotes, o objetivo básico é a identificação de diferenças importantes na qualidade

fisiológica entre lotes de sementes comercializáveis, principalmente, daqueles com poder germinativo semelhante. Daí a importância da disponibilidade de testes que procuram avaliar o estado atual das sementes, através da determinação de parâmetros associados ao vigor, ou seja, produção de lotes de qualidade (Scappa Neto et al., 2001).

O intuito é encontrar características físicas e fisiológicas do material trabalhado, sempre levando em consideração as variações encontradas entre as populações e espécies (Silva et al., 2008), pois entende-se que sementes de alta qualidade são importantes para área de produção (Scheeren et al., 2010) onde essas garantem alta produtividade na resposta produtiva e no aproveitamento de material (Amaro et al., 2015).

E para se conhecer as características inerentes a semente e testar sua qualidade fisiológica os laboratórios seguem metodologias desenvolvidas pelo MAPA (Lopes et al., 2009), afim de garantir um padrão de comercialização entre as espécies, tais normas são denominadas Regras para Análise de Sementes – RAS. Criada em 1967 atendendo ao que determinava a Lei nº 4727, de 13.07.1965, que dispõe sobre a fiscalização do comércio de sementes e mudas, determinando sua obrigatoriedade no comércio nacional de sementes. Essas regras foram baseadas nas Regras adotadas pela Associação Internacional de Análise de Sementes (ISTA), juntamente com as Regras da Associação Norte-Americana de Analistas de Sementes (RAS), com a finalidade de melhor atender, tanto quanto possível, as possibilidades dos Laboratórios de Análise de Sementes existentes no Brasil (Lopes et al., 2009).

Para algumas espécies já existe recomendações proposta pelo MAPA (Brasil, 2013), onde descrevem formas de amostragem dos lotes até as condições para o teste de germinação e análises de sementes, promovendo a otimização das cadeias produtivas de sementes florestais.

A RAS (Brasil, 2009b) se enquadra como normas de validação da qualidade fisiológica de lotes de sementes de uma espécie de interesse, quando se preme viabilizar uma cadeia produtiva legal, afim de regulamentar padrões da espécie na tentativa de aprovação do processo produtivo, seguindo as diretrizes proposta pela Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003 que vigora no Sistema Nacional de Sementes e Mudas - SNSM (Brasil, 2003), onde essa estabelece padrões a serem adotados para se executar uma cadeia produtiva e suas implicações, e nesse sentido a lei foi complementada pelo Decreto nº 5.153, de 23 de julho de 2004 (Brasil, 2004), mas devido as constantes mudanças de

perspectiva do setor, foi lançado em forma de consulta pública no fim do ano de 2019, outro decreto que garanta melhor aporte dos seus processos de validação, aprovação e implementação de uma cadeia.

Diante disso, as cadeias de produção para otimização dos seus processos de caracterização dos lotes de sementes devem caminhar para uma seleção de variáveis, tais como, teste de germinação, emergência, peso de mil sementes, biometria e características referentes a árvore matriz, como morfologia, diâmetro, altura, copa, forma do tronco e fitossanidade (Figliolia et al., 1993; Davide et al. 2008), na intenção de demonstrar características desejáveis referentes a sua qualidade fisiológica, considerando as variações existente entre e dentro das espécies e das populações, para seleção de árvores matriz com características superiores.

O intuito é atender o mercado com sementes florestais de qualidade e em quantidade suficiente (Garcia et al., 2011), tendo controle da produtividade e na tomada de decisão em relação a qualidade do material coletado. Um erro de seleção pode ser prejudicial ao sucesso do empreendimento, aumentando seus custos e perda de tempo com reposição de material insatisfatório, no ponto de vista econômico e ecológico (Sena et al., 2008).

Nesse sentido, uma espécie muito procurada, que justifica a otimização na sua cadeia produtiva é o *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S.O.Grose, vulgarmente conhecido como ipê amarelo, espécie pertencente à família Bignoniaceae (Tropicos, 2019) uma árvore que pode alcançar de 20 a 25 m (Mekdece et al., 2013), reconhecida principalmente pelo seu potencial madeireiro, mas usada também no paisagismo e reflorestamento, reconhecida pelas flores amarelas e pela margem de suas folhas serem serrilhadas, frutifica entre setembro e novembro, com dispersão entre outubro e dezembro (Mekdece et al., 2013), sendo de ciclo anual.

A espécie traz retorno econômico mas ecologicamente corre um risco de extinção, devido a sua grande exploração juntamente com o desmatamento, caracterizando uma perda futura, como ocorreu com espécies do gênero que estavam listadas como ameaçadas de extinção em 2008 pelo Ministério do Meio Ambiente, sendo essas, *H. botelhensis* (A.H. Gentry) S. Grose e *H. selachidentatus* (A.H. Gentry) S. Grose, (Brasil, 2008).

Além do risco de extinção, o isolamento dos indivíduos resultara em perda de variabilidade genética com o passar das gerações, pois mesmo sendo uma espécie de

fecundação cruzada ela busca mecanismos de sobrevivência podendo até se autofecundar caso não haja interação com outros indivíduos, o que demonstra uma evolução nos mecanismos de propagação, mas uma perda em características superiores (Sampaio, 2010) inviabilizando o melhoramento genético.

E para evitar tal perda, o interessante é propor metodologias alternativas que possibilitem a conservação da base genética da espécie, onde indivíduos isolados não garantem um ganho de seleção, o que inviabiliza a produção de sementes, mas abre espaço para outras formas de conservação e propagação, como o pólen, que é o gameta masculino das plantas, que tem como objetivo a reprodução das espécies vegetais, fundamental para garantia da sobrevivência das espécies. (Casaca, 2010) e cria a possibilidade de interação entre matrizes e obtenção de indivíduos superiores.

Com isso, a caracterização da proporção de pólen viável de algumas espécies vem sendo trabalhada como alternativa de conservação de tais espécies como também de apoio a programas de melhoramento genético (Santos et al., 2015) pois garante cruzamentos e formação de indivíduos superiores, mas é de grande importância que o pólen apresente boa viabilidade, pois este influencia diretamente no sucesso da fertilização (Pozzobon et al., 2011; Cabral et al., 2013). Com isso, conhecer aspectos florais junto com a viabilidade polínica é fundamental para seleção de indivíduos que garantam o sucesso da hibridação (Chagas et al., 2010).

A obtenção da proporção do pólen viável é rotineiramente feita por testes ou germinativos como também por testes colorimétricos (Techio et al., 2006), onde os corantes mais utilizados são: carmim acético, azul anilina, azul de algodão, iodeto de potássio, cloreto de trifeniltetrazólio e tetrazólio vermelho (Stanley et al., 1974; Shivanna et al., 1992; Sharma et al., 1994) e os testes germinativos são normalmente ajustados em meio semissólido a base de ágar, pois esse facilita a absorção de açúcares e outros nutrientes além de manter sua umidade (Stanley et al., 1974).

O desafio é determinar a melhor metodologia que represente a viabilidade de cada espécie, definindo o melhor corante e a combinação ideal para criação do meio de cultura que melhor induza a germinação, como foi feito com outras espécies, onde podemos citar a *Bertholletia excelsa* Bonpl. (Santos et al., 2015), *Psidium cattleianum* Sabine (Hister et al., 2016), *Bixa orellana* L. (Schmitt et al., 2015) que testaram diferentes corantes, como também pra *Eucalypto spp.* (Sousa, 1988) que testou padrões germinativos para espécie.

Diante disso tudo, o intuito do trabalho é levantar características que demonstrem o vigor das sementes criando padrões de qualidade fisiológica para espécie e também servindo de base para futuros programas de melhoramento que adotem a viabilidade do polínica da espécie como ponto de partida. Sempre tendo em vista um ganho em produtiva, sendo esse o caminho a ser tomado para que se garanta a conservação e otimização da produção de mudas que irão favorecer os programas com base na silvicultura que vem sendo apresentados e que necessitam de indivíduos com características desejáveis.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

- Definir protocolos para otimização da produção de sementes e estimar a viabilidade polínica de *H. serratifolius* (Vahl.) S.O. Grose.

2.2 ESPECÍFICOS

- Definir parâmetros de vigor que demonstrem a qualidade fisiológica das sementes;
- Correlacionar as características das árvores matriz com parâmetros de vigor;
- Estimar o coeficiente de repetibilidade dos caracteres biométricos de sementes;
- Avaliar a viabilidade polínica e suas implicações para a conservação.

CAPITULO 1:

Parâmetros de qualidade fisiológica para seleção de matrizes de *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi levantar e correlacionar características que demonstrem o vigor das sementes de *H. serratifolius*, criando padrões de qualidade fisiológica para espécie, por meio de 20 árvores matrizes; com intuito de otimizar a produção, minimizar perdas futuras de material genético com alta variabilidade, indicar as variáveis mais relevantes no processo de caracterização dos lotes e selecionar matrizes superiores. Foram coletadas sementes de 20 matrizes com as características dendrométricas aferidas (DAP, altura comercial, altura de copa e diâmetro de copa). Dos 20 lotes de sementes formados, foram analisadas as características físicas (biometria, peso de mil sementes e teor de água) e fisiológicas (porcentagem, índice de velocidade e tempo médio de germinação; porcentagem, índice de velocidade e tempo médio de emergência). O número amostral de 20 matrizes foi o suficiente para representar a população. Através da matriz de correlação foi observado que as características dendrométricas das matrizes, não influenciaram no potencial fisiológico das sementes. Dentre as variáveis trabalhadas nos lotes de sementes, o peso de mil sementes apresentou-se fortemente correlacionado com as características biométricas e com a formação de plântulas, demonstrado tanto pela matriz de correlação, como pela resposta dos componentes principais; sendo, portanto o peso de mil sementes e as características biométricas, as variáveis que melhor explicaram o comportamento da população para os padrões avaliados. O coeficiente de repetibilidade demonstrou que quatorze sementes são suficientes para caracterizar um lote de sementes de *H. serratifolius* quanto as suas características biométricas.

Palavras-chave: árvores matriz, qualidade fisiológica, produção de sementes.

ABSTRACT

The objective of this work was to raise and correlate characteristics that demonstrate the vigor of the *H. serratifolius* seeds, creating standards of physiological quality for the species, through 20 matrix trees; in order to optimize production, minimize future losses of genetic material with high variability, indicate the most relevant variables in the batch characterization process and select superior matrices. Seeds were collected from 20 matrices with the measured dendrometric characteristics (DBH, commercial height, crown height and crown diameter). Of the 20 seed lots formed, the physical characteristics (biometrics, thousand seed weight and water content) and physiological characteristics

(percentage, speed index and average germination time; percentage, speed index and average emergence time) were analyzed. The sample number of 20 matrices was enough to represent the population. Through the correlation matrix it was observed that the dendrometric characteristics of the matrices did not influence the physiological potential of the seeds. Among the variables worked in the seed lots, the weight of a thousand seeds was strongly correlated with the biometric characteristics and with the formation of seedlings, demonstrated both by the correlation matrix and by the response of the main components; therefore, the weight of a thousand seeds and the biometric characteristics, the variables that best explained the behavior of the population for the evaluated standards. The repeatability coefficient demonstrated that fourteen seeds are sufficient to characterize a seed batch of *H. serratifolius*.

Keywords: matrix trees, physiological quality, seed production.

1.1 INTRODUÇÃO

A corrida contra o desmatamento é um tema muito contextualizado com o aquecimento global e as emissões dos gases do efeito estufa, mas se comenta também o aumento das áreas degradadas que tiveram seu processo regenerativo prejudicado e precisando de suporte para retomar sua dinâmica florestal. Além disso, há uma insatisfação com a ineficácia do combate do avanço do desmatamento, muitas vezes causado por queimadas, valorização da pecuária, força do agronegócio como também da própria exploração ilegal. E quando essa realidade é na floresta Amazônica, que é a maior floresta tropical do mundo, essa preocupação se intensifica.

Mas essa preocupação não se justifica, pois se olharmos o histórico dos últimos dez anos, para a floresta Amazônica, a média anual se deu em 6.791 Km², bem abaixo dos picos históricos de 1995 e 2004, de 29.1 e 27.8 Km², respectivamente, mas no último ano houve um aumento de 30% em relação a esse valor médio onde o desmatamento chegou em 9.762 Km² (INPE, 2019), o que gera certo desconforto, muito justificado, pela falta de fiscalização e recursos por parte do governo, mas é mutuo o entendimento que o país tem o cronograma a seguir junto a Política Nacional sobre Mudança do Clima, lei nº 12.187/2009 (Brasil, 2009a), onde se propôs a reduzir o desmatamento e suas emissões com resposta para 2020.

Ao mesmo tempo que se pensa em combater a perda da biodiversidade, reflete-se a recuperação de áreas degradadas, e para isso, a restituição da diversidade biológica por meio do reflorestamento é o caminho que se tem tomado para recuperar a dinâmica florestal. De acordo com o relatório da Indústria Brasileira de Árvores (2019) a área plantada no ano de 2018 foi de 7,83 milhões de hectares, sendo em 7,3 milhões de hectares voltados para pinus e eucalipto e, seringueira, acácia, teca e paricá, representam cerca de 590 mil hectares.

Porém, um país diverso em biomas e com uma heterogeneidade biológica e riqueza em espécies florestais, ainda trabalhamos com um número insignificante frente a diversidade existente no bioma Amazônico. Ter Steege et al. (2013) comentam que a Amazônia possui uma biodiversidade por volta de 16 mil espécies arbóreas, onde apenas 1492 são cultivadas, isso nos remete a infinitas possibilidades do aumento da biodiversidade de espécies nos programas de reflorestamento.

Entretanto, a eficiência no estabelecimento dos plantios e produção de mudas, vão muito além da escolha da espécie de interesse; depende principalmente da viabilidade do material genético, onde as sementes ainda são a principal influência na propagação de espécies vegetais (Carvalho et al., 2012), preponderando para as espécies florestais nativas.

Diante disso, para que essas espécies sejam utilizadas é importante avaliar a qualidade das sementes produzidas. Cada lote produzido deve-se avaliar as características físicas e fisiológicas, sempre levando em consideração as variações encontradas entre as populações e espécies; pois entende-se que sementes de alta qualidade são importantes para área de produção (Silva et al., 2008; Scheeren et al., 2010; Amaro et al., 2015).

E para se conhecer as características inerentes a semente e testar sua qualidade fisiológica, os laboratórios seguem metodologias desenvolvidas pelo MAPA (Lopes et al., 2009), afim de garantir um padrão de comercialização entre as espécies, tais normas são denominadas Regras para Análise de Sementes – RAS.

A RAS (Brasil, 2009b) se enquadra como normas de validação da qualidade física e fisiológica de lotes de sementes de uma espécie de interesse, quando se pretende viabilizar uma cadeia produtiva legal, afim de regulamentar padrões da espécie na tentativa de aprovação do processo produtivo, seguindo as diretrizes proposta pela Lei nº 10.711, de

5 de agosto de 2003 que vigora no Sistema Nacional de Sementes e Mudas - SNSM (Brasil, 2003).

Portanto, as cadeias de produção para otimização dos seus processos de caracterização dos lotes de sementes, devem caminhar para uma seleção de variáveis como teste de germinação, emergência, peso de mil sementes, biometria e características referentes a árvore matriz, entre outros. Tais processos, demonstram características desejáveis referentes a sua qualidade fisiológica, considerando as variações existente entre e dentro das espécies e das populações, para seleção de árvores matriz com características superiores.

Nesse sentido, uma espécie muito procurada, que justifica a otimização na sua cadeia produtiva é o *H. serratifolius* (Vahl) S.O.Grose, vulgarmente conhecido como ipê amarelo, reconhecida principalmente pelo seu potencial madeireiro. A exploração indiscriminada dessa espécie, juntamente com o desmatamento, caracteriza uma perda futura, como ocorreu com espécies do gênero *H. botelhensis* (A.H. Gentry) S. Grose e *H. selachidentatus* (A.H. Gentry) S. Grose) que estavam listadas como ameaçadas de extinção em 2008, pelo Ministério do Meio Ambiente (Brasil, 2008). Além do risco de extinção, o isolamento dos indivíduos resultara em perda de variabilidade genética com o passar das gerações, pois mesmo sendo uma espécie de fecundação cruzada ela busca mecanismos de sobrevivência, podendo até se autofecundar caso não haja interação com outros indivíduos, o que demonstra uma evolução nos mecanismos de propagação, mas uma perda em características superiores (Sampaio, 2010) o que inviabiliza a seleção de matrizes.

O objetivo deste trabalho foi levantar e correlacionar características que demonstrem o vigor das sementes, criando padrões de qualidade fisiológica para espécie, por meio de 20 árvores matrizes; com intuito de otimizar a produção, minimizar perdas futuras de material genético com alta variabilidade, indicar as variáveis mais relevantes no processo de caracterização dos lotes e selecionar matrizes superiores.

1.2 MATERIAS E MÉTODOS

Os lotes de sementes utilizadas são oriundos de 20 matrizes, fornecidos pelo Viveiro Florestal Santa Luzia, localizado no município do Apuí. O clima local é do tipo Ami, segundo a classificação de Köppen, com precipitação média anual de 2.286 mm e umidade relativa do ar oscilando em torno de 80%. O período chuvoso se estende de

dezembro a maio e o seco, de junho a novembro, com temperatura média anual de 26,7 °C (Barbosa et al., 2015). Cada matriz contém uma ficha de identificação com caracteres dendrométricos e de localização geográfica (Figura 1), além de características geográficas do sítio de coleta.

Após a chegada dos lotes de sementes devidamente identificados, no Centro de Sementes Nativas do Amazonas – UFAM, localizado na cidade de Manaus, estes foram submetidos a secagem ao ar livre para entrarem em equilíbrio higroscópico, garantindo homogeneidade dos lotes. Posteriormente, as sementes foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em câmara fria a 10±2 °C, até a realização dos teste.

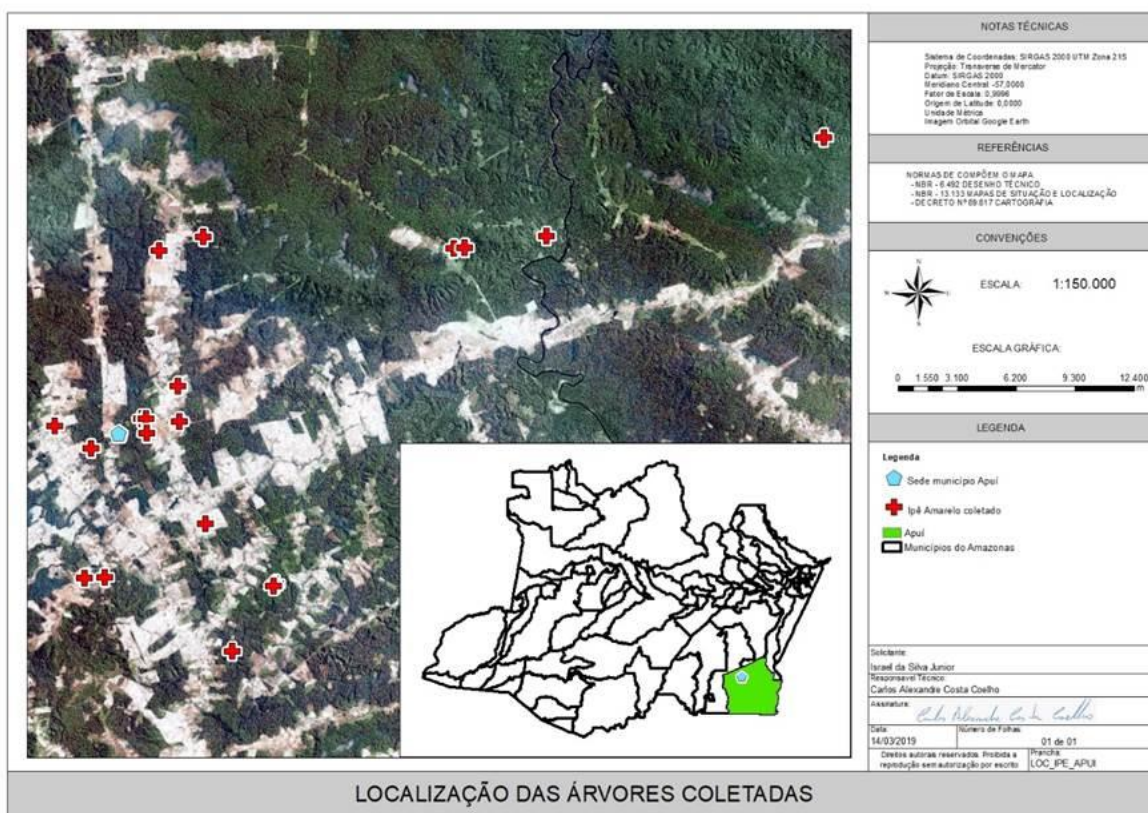


Figura 1 - Mapa de localização das matrizes de *H. serratifolius*, no município de Apuí, AM.
Fonte: Coelho (2019)

Seguindo os procedimentos propostos pela RAS (Brasil, 2009) foi obtido o teor de água após o armazenamento. O método utilizado foi o de estufa a 105 ± 3 °C por 24 horas, e os resultados foram expressos em porcentagem dos valores médios de duas subamostras (Brasil, 2009b). Para evitar desperdício de material e que a quantidade de sementes fosse representativa do lote, foi padronizado 30 sementes para cada subamostra.

De cada lote foram selecionadas, ao acaso, 30 sementes, cujas medidas de comprimento, largura e espessura foram mensuradas com o auxílio de paquímetro digital com precisão de 0,01 mm. A pesagem individual das sementes foi feita em uma balança eletrônica com precisão de 0,001g.

O peso de mil sementes foi determinado com oito repetições ($r=8$) de 100 sementes; para validação dos valores foram calculadas a variância, desvio padrão e o coeficiente de variação (Brasil, 2009).

A germinação foi realizada em delineamento inteiramente casualizado, composto de 20 tratamentos (matrizes), e quatro repetições de 25 sementes. As sementes foram postas para germinar em rolos de papel germitest umedecidos com água destilada 2,5 vezes o peso do papel e; colocadas em câmaras de germinação com temperatura constante de 30 °C (Brasil, 2009). Para evitar o ressecamento do substrato, os rolos foram colocados em sacos plásticos transparentes e sempre que necessário, o substrato foi umedecido com água destilada durante o acompanhamento do processo germinativo.

O monitoramento do processo germinativo foi feito diariamente, até a estabilização das ocorrências de germinação. Foram observados dois critérios de germinação, a emissão da raiz primária (Germinação) e a formação da uma plântula normal (Emergência). Foi calculada a porcentagem de germinação (G), a porcentagem de emergência (E); o tempo médio de germinação e tempo médio de formação de plântula (TMG e TME) usando a equação proposta por Edwards (1934) e também. o índice de velocidade de germinação e o índice de velocidade de emergência (IVG e IVE), utilizando a equação adaptada de Maguire (1962).

Foi testada a normalidade (teste de Shapiro-Wilk), com 0,01 de nível de significância e também realizada uma correlação de Pearson entre os parâmetros tecnológicos associados a sementes com as características dendrométricas das árvores matriz, testados em um nível de significância de 0,05. As análises foram realizadas no programa estatístico RStudio versão 3.5.0 (2018). Foi realizada a análise dos componentes principais com as variáveis trabalhadas, afim de determinar as mais relevantes para caracterização da espécie, essa análise foi feita no programa estatístico Past 4.02.

Os parâmetros avaliados foram submetidos a uma análise de variância com comparação de médias pelo teste de Scott Knott com probabilidade de 5 %. Com os

caracteres biométricos da semente foi estimado o coeficiente de repetibilidade com base em componentes principais e matrizes de variâncias e covariâncias fenotípicas, além do número mínimo de medições necessário para prever o valor real dos genótipos com base em um coeficiente de determinação de 95%, conforme descrito em Valente et al. (2017). Essas análises foram realizadas utilizando o aplicativo computacional em genética e estatística, Programa GENES versão 6.1 da Universidade Federal de Viçosa – UFV (CRUZ, 2013).

1.3 RESULTADOS

As características dendrométricas se mostraram bastante variadas (Tabela 1), com valores médios de, $33,2 \pm 12,23$ cm para o diâmetro, $12,7 \pm 5$ m para altura comercial, $6,7 \pm 2,7$ m para altura de copa e $6,1 \pm 1,39$ para diâmetro de copa.

Tabela 1 - Dados dendrométricos de 20 matrizes de *H. serratifolius*.

Árvore	DAP (cm)	Hm (m)	Altura da copa (m)	Diâmetro da copa (m)
1	25,5	8	5	4
2	20,7	8	5	6
3	38,2	18	8	8
4	46,2	12	10	6
5	41,4	15	10	7
6	32,5	13	7	6
7	19,7	6	4	4
8	22,3	7	5	5
9	28,6	9	5	6
10	28,6	10	5	5
11	43,0	15	6	7
12	63,7	20	10	9
13	22,3	8	5	5
14	30,2	10	5	6
15	25,5	10	6	5
16	12,7	8	3	4
17	47,7	20	12	8
18	46,2	20	12	7
19	36,6	17	5	6
20	33,4	20	5	7
Média	33,2	12,7	6,7	6,1
Máx	63,7	20	12	9
Mín	12,7	6	3	4
CV (%)	37	39	41	23

DAP = Diâmetro a altura do peito, Hm = altura comercial, CV = Coeficiente de variação.

Como podemos observar, os valores de DAP variaram de 12,7 a 63,7 cm, a altura total, que é a soma da altura comercial e a altura de copa, variou de 9 a 32 m e o diâmetro de copa teve um intervalo de 4 a 9 m.

Foi aferido o teor de água dos lotes posteriormente ao armazenamento, onde a média dos valores foi de 9,55 % de umidade (Figura 2), os teores de água variaram entre as matrizes, de 7,03 % na matriz 19 até 10,85 % na matriz 13.

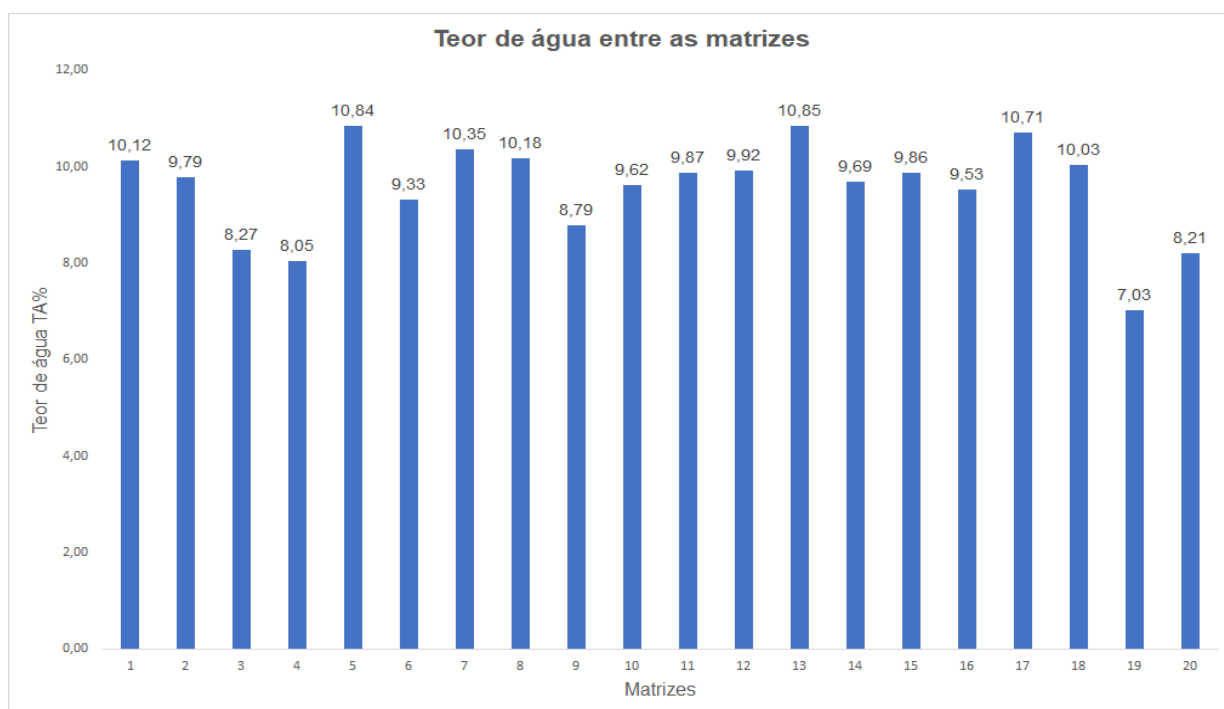


Figura 2 - Teores de água de lotes de sementes de 20 matrizes de *H. serratifolius*.

A partir da metodologia proposta obteve-se (Tabela 2) como resposta aos parâmetros observados. Onde vemos a distribuição das variáveis por ordem de obtenção da resposta, começando pelo peso de mil sementes até a emergência das plântulas após a germinação.

Tabela 2 - Matriz resposta do peso de mil sementes com a biometria de sementes de 20 matrizes de *H. serratifolius*.

Indivíduos	PMS		C		L		E		P	
1	12,943	h	20,6663	f	6,0513	g	0,376	f	0,0119	e
2	12,373	h	24,8453	e	7,923	d	0,3383	f	0,0126	e
3	13,749	h	27,054	d	7,2643	f	0,451	f	0,0143	e
4	43,752	e	35,5097	a	7,935	d	0,8457	d	0,0464	c
5	8,820	j	25,346	e	8,0167	d	0,2907	g	0,0119	e
6	3,280	l	25,195	e	7,087	f	0,1673	g	0,0071	e
7	55,058	c	35,3713	a	9,0227	c	1,324	a	0,0603	b
8	39,128	f	20,623	f	7,656	e	0,4353	f	0,0144	e
9	28,494	g	31,923	c	7,9243	d	0,8357	d	0,329	d
10	13,584	h	33,904	b	8,971	c	0,921	c	0,0328	d
11	6,220	k	25,0767	e	7,5077	e	0,25	g	0,0075	e
12	8,895	j	28,725	d	7,625	e	0,4443	f	0,018	e
13	42,244	e	37,5183	a	10,6613	a	0,6857	e	0,0432	c
14	58,043	b	34,2937	b	9,6017	b	0,6857	e	0,0647	b

15	46,954	d	36,4407	a	7,947	d	0,935	c	0,0501	c
16	38,944	f	35,774	a	9,3617	b	0,95	c	0,0479	c
17	11,448	i	24,7063	e	7,2314	f	0,3637	f	0,0143	e
18	11,070	i	17,665	g	8,144	d	0,4283	f	0,0099	e
19	64,224	a	34,7413	b	9,236	b	1,143	b	0,0744	a
20	56,129	c	34,5777	b	8,7603	c	1,116	b	0,0566	b
Média	28,8		29,5		8,2		0,6		0,0316	
Máx	64,22		37,52		10,66		1,32		0,07	
Mín	3,28		17,67		6,05		0,17		0,01	
CV (%)	72		21		13		53		61	

C = comprimento, E = espessura, L = largura, P = peso, PMS = peso de mil sementes, CV = coeficiente de variação. Médias seguidas pela mesma letra não possuem diferenças significativas.

Em relação as características relacionadas a semente, o PMS foi o que apresentou o maior intervalor, de 3,28 a 64,224 g, com uma amplitude de 60,94 g, e em média o PMS foi de 28,8 g, estando dívida em 12 grupos de médias distintas. Em relação aos lotes, o 19, 14, 20 e 7 apresentaram os maios valores, e os lotes 6, 11, 5 e 12 tiveram os menores valores.

A biometria sendo também relacionada ao tamanho da semente, não apresentou variação expressiva como o PMS, mas demonstrou uma variação em um intervalo de 17,6 a 37,5 mm para o comprimento, 6,1 a 10,7 mm de largura, 0,17 a 1,32 mm de espessura e 0,0071 a 0,0744 g de peso, suas variações formaram no máximo sete grupos de médias diferentes.

Dessa forma a matriz 13 apresentou os maiores valores para comprimento e largura e as matrizes 7 e 19 tiveram os maiores valores para espessura e peso, respectivamente. Em contrapartida, a matriz 18 apresentou o menor valor em relação ao comprimento, a matriz 1 a menor largura, a 6 a menor espessura e peso.

A maior germinação foi do lote 20, com 88% de germinação, até lotes, como o 6 e o 16, que não chegaram a germinar (Tabela 3), o que gerou sete grupos de médias diferentes entre si. O índice de velocidade de germinação variou entre os lotes germinados entre 0,09 até 6,66, lotes 11 e 3, respectivamente, divididos em cinco grupos de médias, e seu tempo médio de germinação variou de 3,2 a 8,4 dias, lotes 3 e 15, respectivamente, separados em três grupos de média.

Tabela 3 - Características germinativas de sementes de 20 matrizes de *H. serratifolius*.

Indivíduos	G	IVG	TMG	E	IVE	TME
1	0,86 a	6,20 a	3,8 a	0 b	0 d	0 d
2	0,72 a	5,76 a	3,5 a	0 b	0 d	0 d
3	0,78 a	6,66 a	3,2 a	0 b	0 d	0 d

4	0,63	b	4,64	b	3,6	a	0,92	a	1,64	b	8,97	a
5	0,53	c	2,61	d	5,2	b	0	b	0	d	0	d
6	0	g	0	e	0	c	0	b	0	d	0	d
7	0,27	d	1,02	e	6,7	b	0,96	a	0,51	c	13,41	b
8	0,74	a	4,32	b	4,5	a	0,96	a	1,66	b	10,89	a
9	0,06	e	0,16	e	7,9	b	0,33	b	0,03	d	10,00	a
10	0,80	a	5,92	a	3,8	a	0	b	0	d	0	d
11	0,03	e	0,09	e	6,5	b	0	b	0	d	0	d
12	0,50	c	3,71	b	3,6	a	0	b	0	d	0	d
13	0,14	e	0,28	e	7,8	b	0,79	a	0,10	d	19,63	c
14	0,82	a	5,48	a	3,8	a	1	a	2,21	a	9,49	a
15	0,15	e	0,48	e	8,4	b	0,73	a	0,12	d	16,83	c
16	0	g	0	e	0	c	0	b	0	d	0	d
17	0,66	b	3,82	c	4,9	a	0	b	0	d	0	d
18	0,47	c	3,45	b	3,6	a	0	b	0	d	0	d
19	0,85	a	3,26	b	6,8	b	0,96	a	1,53	b	13,83	b
20	0,88	a	3,55	b	6,6	b	0,97	a	1,64	b	10,66	a
Média	0,5		3,1		4,7		0,4		0,4		5,7	
Máx	0,88		6,66		8,4		1		2,21		19,63	
Mín	0		0		0		0		0		0	

IVG = índice de velocidade de germinação, IVE = índice de velocidade de emergência, G = da porcentagem de germinação, E = porcentagem de emergência TMG = tempo médio de germinação, TME = tempo médio de emergência. Médias seguidas pela mesma letra não possuem diferença significativa.

Dentre os lotes germinados, 45% geraram plântulas normais, variando de 33 %, no lote 9, a 100%, no lote 14, basicamente separados em dois grupos, os que formaram plântulas e os que não formaram, os índices de velocidade de emergência, variaram de 0,03 a 2,21, lotes 9 e 14, respectivamente, em um tempo médio de emergência de 8,97 a 19,63 dias, lotes 4 e 13, respectivamente, ambos separados em quatro grupos.

Ao agruparmos as matrizes que obtiveram os maiores e melhores resultados (Tabela 4), observamos que as matrizes 5, 6 e 11 não apresentaram nenhuma característica satisfatória, em contrapartida os lotes 14 e 20, que estão em 40% das variáveis, 17 que está em 5 das 15 variáveis e o lote 19 que ficou em 4, podem ser consideradas como as melhores matrizes, os demais lotes no máximo estiveram presentes agrupados com 3 variáveis.

Tabela 4 - Agrupamento das matrizes de *H. serratifolius*. com características superiores.

Variáveis	Matriz com características superiores		
DAP	12	17	18
Altura comercial	17	17	20
Altura da copa	17	18	12
Diâmetro de copa	12	3	17
PMS	19	14	20
Comprimento	13	15	16

Largura	13	14	16
Espessura	7	19	20
Peso	19	14	7
Germinação	20	1	19
IVG	3	1	10
TMG	3	2	4
Emergência	14	20	8
IVE	14	8	20
TME	4	14	9

Utilizando-se de um nível de significância mínimo de 0,01, que representa uma taxa de erro de 1%, observamos que as variáveis (Tabela 5) que se comportaram fora da normalidade foram, altura da copa, emergência, IVE e TMG, onde seus valores de w_{calc} foram menores que o valor de w tabelado de 0,868.

Tabela 5 - Valores de W por variável e seus respectivos valores de p pelo Shapiro test.

	<i>DAP</i>	<i>Hm</i>	<i>Hc</i>	<i>DC</i>	<i>PMS</i>	<i>C</i>	<i>L</i>	<i>E</i>
<i>W calc</i>	0,9637	0,8801	0,828	0,9424	0,8728	0,9002	0,9643	0,930
			4					5
	P	G	IVG	TMG	E	IVE	TME	
<i>W calc</i>	0,8779	0,8691	0,898	0,9223	0,7003	0,6612	0,7758	0

C = comprimento, DAP = Diâmetro a altura do peito, DC = diâmetro de copa, E = espessura, EM = porcentagem de emergência, G = porcentagem de germinação, Hc = altura da copa, Hm = altura comercial, IVG = índice de velocidade de germinação, IVE = índice de velocidade de emergência, L = largura, P = peso, PMS = peso de mil sementes, TMG = tempo médio de germinação, TME = tempo médio de emergência.

Com indicadores de cores para relações positivas e negativas (Figura 3), observamos que as características dendrométricas apresentaram alta correlação positiva entre si, variando de 0,7 (altura comercial e altura de copa) até 0,87 (altura comercial com diâmetro de copa) e com as demais variáveis não foi relevante a interação a um nível de significância de 5 %.

O PMS mostrou alta correlação positiva com as características inerentes a semente, exceção ao peso, com destaque a relação com a espessura que foi de 0,82, e também com o processo de emergência e seus componentes de caracterização de vigor, IVE e TME, tendo com a emergência uma correlação de 0,92, e com as demais variáveis a relação é insignificante.

Com exceção do peso, os valores de biometria tiveram correlação positiva entre si, variando de 0,61 (largura com espessura) até 0,8 (comprimento com espessura), além

de se correlacionarem com a emergência e seus parâmetros de vigor, com as demais variáveis os resultados são insignificantes.

A germinação só apresentou correlação significativa com o IVG, sendo de 0,92, o IVG apresentou o mesmo comportamento e o TMG não apresentou nenhuma relação significativa. Para emergência, além das relações já citadas ela apresentou uma relevância com o IVE e TME, de 0,8 e 8,89, respectivamente.

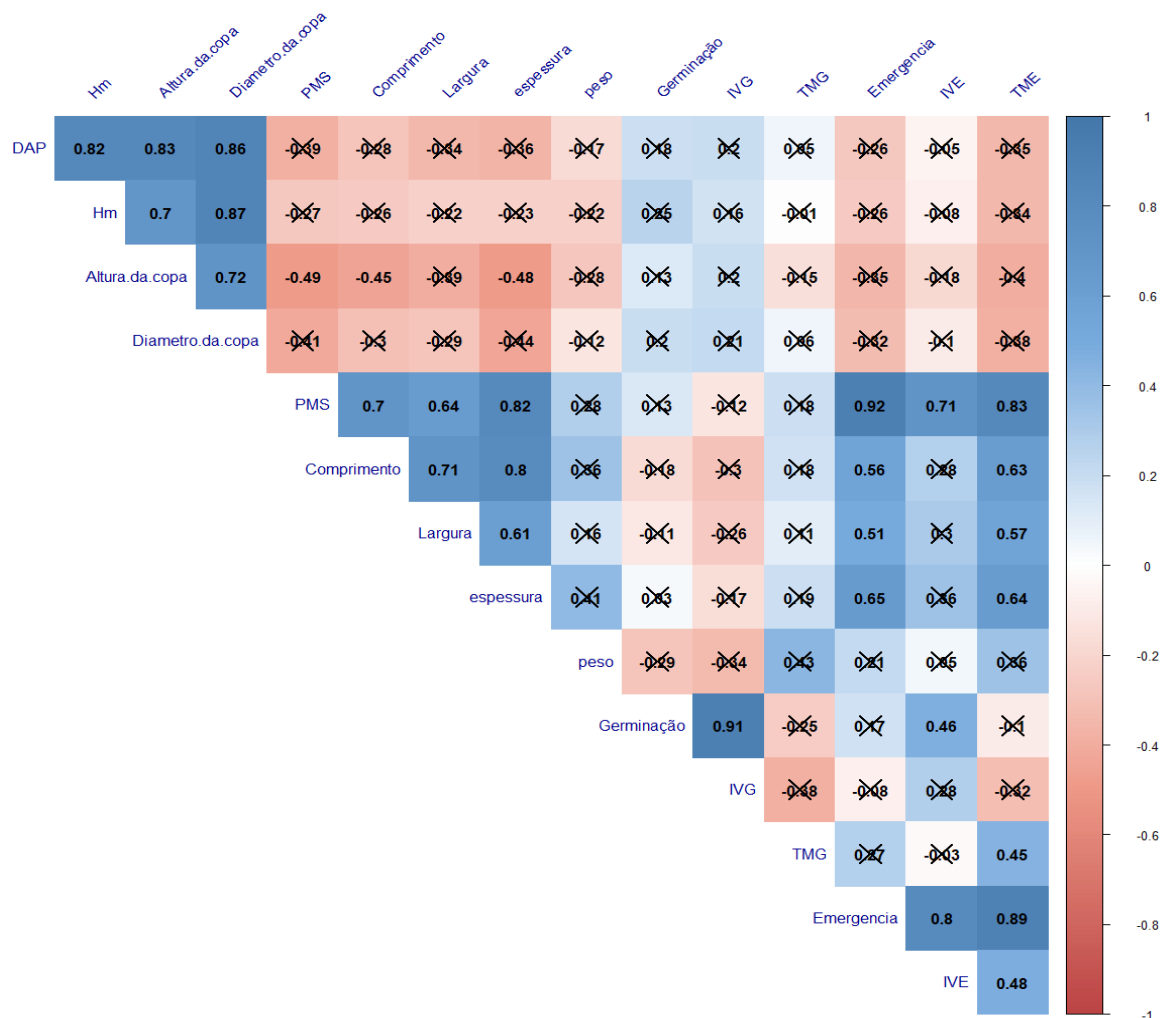


Figura 3 - Matriz de correlação testada a um nível de significância de 0,05.

Em relação aos componentes principais, percebemos que de acordo com a Tabela 6, os dois primeiros coeficientes representam 60,32 % de toda variação envolvida entre as variáveis, dessa forma, somente a representatividade destes dois componentes serão levados em consideração.

Tabela 6 - Coeficientes de correlação dos componentes principais por meio de análise multivariada.

PC	Autovalor	% variação explicada
1	6,27	41,79
2	2,78	18,52
3	2,20	14,63
4	1,05	7,00
5	0,82	5,49
6	0,55	3,69
7	0,39	2,63
8	0,33	2,20
9	0,26	1,71
10	0,18	1,21
11	0,07	0,45
12	0,05	0,34
13	0,03	0,19
14	0,02	0,15
15	0,001	0,009

Para o primeiro componente, a variação do PMS (0,35), comprimento (0,31), largura (0,28), espessura (0,32), emergência (0,32) e TME (0,33) foram significativas, demonstrando que em 41,79 % dos casos o comportamento da espécie é explicada por essas variáveis, em contrapartida as características das árvores matriz e a germinação tiveram correlação negativa como o primeiro componente, já para o segundo componente, a germinação (0,47), IVE (0,43) e o IVG (0,38) foram relevantes e o TMG e o peso da semente tiveram influência negativa, como demonstra a Figura 4.

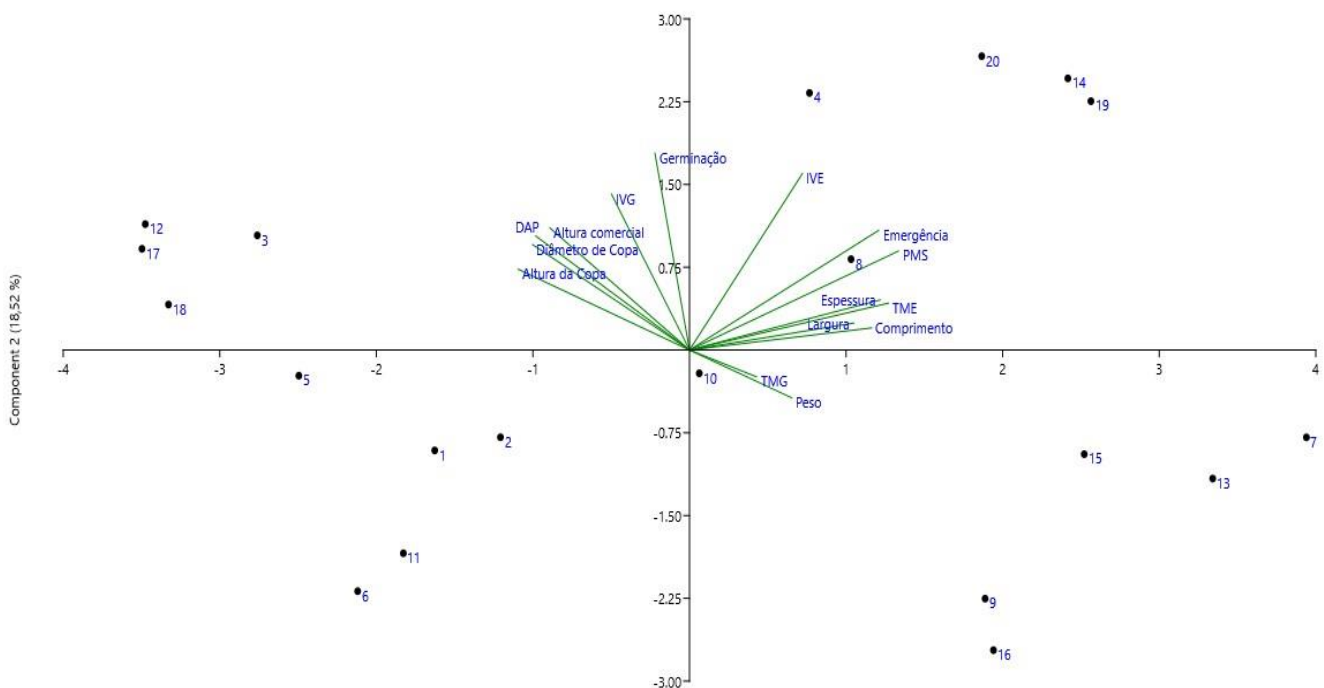


Figura 4 - Agrupamento das variáveis com os melhores valores por componentes apresentado.

Com intuito de otimizar a produção e reduzir do número amostral para se determinar os padrões biométricos, foi determinado o coeficiente de repetibilidade, onde esse variou entre 0,5892, para largura, até 0,7357, para espessura, com uma porcentagem de certeza de 98% e a partir disso, 14 sementes seriam suficientes para compor uma amostragem de forma confiável que traduzisse o comportamento do lote (Tabela 7).

Tabela 7 - Determinação do coeficiente de repetibilidade para as variáveis biométricas.

Caracteres Biométricos	QMG	Média Geral	CV _e (%)	Repetibilidade via Componentes Principais e matriz de covariâncias		
				r	R ²	Nº de avaliações para R ² = 0,95
Peso Úmido	0,01454**	0,031	46,61	0,6968	0,985705	9
Comprimento	1148,5313* *	29,498	13,71	0,7228	0,987378	8
Largura	33,3461**	8,197	10,92	0,5892	0,977286	14
Espessura	3,4545**	0,649,	31,98	0,7357	0,988168	7

1.4 DISCUSSÃO

Entende-se que é necessário o conhecimento das características inerentes a árvores matriz para que se possa realizar uma tomada de decisão em relação a sua função, onde essa pode ser fornecedora de sementes, produtora de mudas ao setor madeireiro ou restauro florestal ou objeto de pesquisa entre outras coisas (Garcia et al., 2011).

A população em questão demonstrou potencial dendrométrico que vai além de árvores porta sementes, ilustrando seu foco na indústria madeireira, onde essas características são demonstradas em outros trabalhos.

Azevedo et al. (2008) obtiveram valores parecidos ao testar tratamentos silviculturas, constatando que a espécie pode atingir uma altura total variando entre 5 e 25 m, tendo seu diâmetro em um intervalo de 20 a 90 cm e seu diâmetro de copa foi de 3 a 8 m, categorizando a espécie como de dossel médio.

Ao testar modelos de crescimento para *H. serratifolius*, Andrade (2015) obteve valores mais agrupados de altura total e diâmetro, com variações de 18 e 26 m e 57 e 83 cm, respectivamente.

Um dos parâmetros de caracterização de lotes de sementes mais importante é o teor de água das sementes, já que o conhecimento dessa característica permite a escolha dos procedimentos mais adequados para a colheita, secagem, beneficiamento e

armazenamento, o que possibilita a preservação da qualidade física, fisiológica e sanitária das sementes (Marcos Filho et al., 1987). *H. serratifolius* é considerada uma espécie ortodoxa (Ferreira et al. 2004), onde segundo Roberts (1973), sementes ortodoxas são aqueles que toleram dessecação para níveis em torno de 5 % do seu teor de água e consegue se manter viáveis em temperaturas de armazenamento abaixo de 0 °C.

O ideal é alcançar valores em torno de 5 % para diminuir a deterioração por atividade microbiana (Costa, 2009) prolongando o período de armazenamento de sementes ortodoxas. Mas Figliolia (1998) indica que teores de água em torno de 8 % é suficiente para o armazenamento da espécie.

Tem-se no peso de mil sementes uma relação com a quantidade para semeadura, sementes por embalagem, além de atribuir uma relação com tamanho da semente, seu estado de sanidade e maturidade (Brasil, 2009).

Para as espécies associadas ao nome ipê amarelo tem-se uma variedade de resposta, para *H. chrysotichus* Maeda (1984) encontrou 10,3 g e Silva et al. (2016) verificou em média 7,6 g; Mekdece et al. (2013) citam para *H. serratifolius* valores superiores a 24 g, Leão et al. (2015) indicam que o peso de mil sementes médio obtido foi de 33,65 g, para Lima Júnior (2016) o resultado foi 7,2 g, segundo Marto (2006) o ipê amarelo apresenta 87 mil sementes por quilo o que representa um PMS de 11,5 g.

As características biométricas das sementes associadas a espécies de ipê amarelo apresentam diferenças numéricas mas não fogem de um padrão para o gênero, Santos et al. (2009) encontraram para *Tabebuia chrysotricha* valores médio de, 7,32 mm de comprimento, 4,2 mm de largura e 0,48 mm de espessura, Mekdece et al. (2013) apresentaram resultados para sementes de *Tabebuia serratifolia* de 6,16 mm de comprimento, 2,98 mm de largura e 0,024 g de peso, já Leão et al. (2015) mostraram valores maiores com, comprimento 8,5 mm, 24,79 mm de largura e 1,34 mm de espessura.

Para espécies associadas ao gênero a biometria se mostrou bastante variada, Felix et al. (2018) com *H. impetiginosus* observaram que o comprimento variou de 1,2 a 2,3 cm, a largura de 0,8 a 1,9 cm e a espessura de 0,1 a 0,4 cm, Martins (2014) em *H. heptaphyllus* obteve valores médios de $15,3 \pm 2,3$ mm para o comprimento, $8,9 \pm 1,4$ mm de largura e $1,1 \pm 0,5$ mm de espessura, para *H. serratifolius*, Lima Júnior (2016) caracterizou as sementes da espécie com valores médios de 10,2 mm de comprimento, 6,5 mm de largura e 0,9 mm de espessura.

A variação nos valores de biometria para espécies associadas ao ipê sofre variação em relação a metodologia do processo de coleta das variáveis, podendo ser coletadas medidas da sementes com asas ou sem asas, o que irá influenciar no valor do comprimento, como demonstraram Felix et al. (2018) com ipê roxo, onde o comprimento foi de 3,9 a 1,6 mm, com e sem asam respectivamente.

O teste de germinação é a forma direta mais importante para expressar a qualidade do lote de sementes e conseqüentemente base para o planejamento da produção de mudas (Medeiros et al. 2005), em *H. serratifolius* existe uma variação que está ligada a metodologia aplicada, Mekdece et al. (2013) indicam que a germinação variou entre 83 a 90%; para Ferreira et al. (2004) em ambiente controlado entre 25 e 30 °C, a germinação pode atingir até 100%. Para espécies associadas ao nome vulgar, ipê amarelo, temos 65,5% para *Tabebuia chrysotricha* obtidos por Fonseca et al. (2005) e 30% para Martins et al. (2009).

O MAPA possui recomendações para a espécie no que diz respeito ao teste de germinação, indicando 8 repetições com 50 sementes, onde essas podem ser distribuídas em diferentes substratos como, entre areia, rolo de papel e sobre vermiculita, em temperatura entre 25 a 30 °C, onde tais sementes germinam entre 14 e 28 dias (Brasil, 2013).

O comportamento dos parâmetros germinativos são dependentes da condução e viabilidade do material, Leão et al. (2015) trabalhando com 3 matrizes mas com as mesma condições de temperatura, substrato e arranjo deste trabalho, obtiveram um resultado médio da germinação de 92%, superior a este trabalho, o IVG foi de 1,48, relativamente baixo considerando o alto valor germinativo e para o TMG houve variação entre 15 a 19 dias.

O IVG é a variável que melhor demonstra o vigor de um lote, pois mesmo sendo dependente da germinação, sua variação justifica a germinação e o tempo relacionado a essa germinação, para Vieira et al. (1994) o IVG é um teste eficiente para projetar o sucesso de novas plântulas.

Martins et al. (2012) testaram características de umidade e temperatura para conservação de *Tabebuia impetiginosa*, observaram em uma umidade de 8,4% uma germinação de 86,7% com emergência de 67,4% e um índice de velocidade de emergência de 0,486, para Santos et al. (2009) testando diferentes substratos para

emergência de *Tabebuia ochracea* observaram uma emergência que variou de 62 a 100% entre os substratos e seu IVE variou de 1,15 a 1,89, ambos trabalhos se modificaram dentro da realidade deste trabalho.

Vale destacar que, segundo Lima Júnior (2016) os processos envolta da produção de sementes e mudas de *H. serratifolius* são conhecidos e de fácil execução. Mas não isentam de um acompanhamento criterioso, pois se trata de uma espécie de fruto deiscente, onde os parâmetros para o reconhecimento do ponto de maturação são fundamentais para melhor momento de colheita, o que reflete diretamente na viabilidade do material (Bianchetti, 1999).

Para isso, alguns parâmetros são levados em consideração como indicadores da maturidade fisiológica dos frutos e conseqüentemente das sementes, como o teor de umidade inicial, coloração dos frutos, biometria de frutos e sementes (Aguiar et al., 1993).

Mas o não acompanhamento do processo como um todo, desde a coleta até a análise, comprometeu a interpretação do fator que gerou os resultados não satisfatórios, como matrizes que não responderam a germinação, então recomenda-se um acompanhamento mais criterioso com a implementação de variáveis que sejam indicadores do ponto de maturação da espécie além de outras formas de expressão do vigor como testes de progênies, dessa forma a exclusão precipitada de uma árvore matriz seria descartada.

As variáveis que não atenderam a normalidade tiveram influência na execução de seus processos e não necessariamente relacionadas ao esforço amostral empregado, demonstrando que 20 matrizes são o suficiente para representar a população, mas até que se adote essa metodologia, por questões de segurança o recomendado seria aumentar o esforço amostral para se garantir maior confiabilidade nos resultados amostrados, onde o ideal é de no mínimo 30 indivíduos que garante um comportamento normal, descartando a necessidade de se testar a normalidade (Higuchi et al., 2008).

Seguindo a metodologia proposta por Dancey et al. (2006) para classificação de força da correlação entre as variáveis, entendemos que mesmo a forte relação entre as características dendrométricas não garante uma dependência entre as variáveis, mas demonstra um crescimento proporcional das características inerentes a árvore, o que nos faz entender como um padrão uniforme de crescimento na formação dos indivíduos e as

características da árvore matriz não interferem no sucesso do processo germinativo e nem formação de plântulas.

A interação biométrica se mostra no desenvolvimento homogêneo e proporcional que ocorre no processo de maturação com a formação dos frutos e sementes, Dias (2001) explica que a partir do processo de fotossíntese a semente recebe produtos que são investidos na formação de novas células, tecidos e reserva nutricional, o que promove um aumento na massa e no tamanho da semente, e esse processo só termina quando a um desligamento natural da planta-mãe.

Dessa forma, as condições de sítio, variações genéticas entre indivíduos, conhecer os padrões fisiológicos para melhor colheita e beneficiamento, explicam as variações biométricas entre os lotes das diversas espécies e diferente regiões.

As características referentes a semente, biometria e PMS, nos levam a afirmar que ambas nos dão uma noção de maturidade fisiológica das sementes, e a não relação com a germinação nos faz entender que ela é dependente de fatores como água, luz, temperatura, substrato entre outras (Dousseau et al., 2008) e a reserva nutricional que está relacionada diretamente com o tamanho da semente, está mais ligada ao processo de formação das plântulas, onde sementes mais pesadas possuem maior conteúdo de reserva o que eleva a probabilidade de sucesso de uma plantio (Haig et al., 1991).

Mas essa relação é dificultada a partir da variação entre as espécies no tamanho de suas sementes, onde muitas investem em quantidade ao invés de maior nutrição, uma característica de espécies pioneiras. Como podemos observar no trabalho proposto por Dal'Col Lúcio et al. (2007) que correlacionaram a proporção de plântulas normais com o PMS de oito espécies diferentes, obtendo relações variando de -0,5589 até 0,9276, mas as demais correlações não ultrapassaram 0,4 em magnitude. O que nos leva a entender que essa relação PMS e sucesso na emergência é particularmente dependente da espécie.

Vale ressaltar que mesmo a biometria não demonstrando relevância com as demais variáveis e somente com o PMS, é justamente essa relação que demonstra sua importância, pois o PMS é diretamente relacionado a emergência das plântulas, o que nos dá a possibilidade de criar um padrão ou intervalo de confiança que demonstre um perfil do peso de mil sementes ou dos caracteres biometricos com um grau satisfatório ao sucesso ou condução de um estabelecimento de plântulas.

Oliveira de Lucena et al. (2017) apontaram que sementes maiores possuem elevadas taxas de crescimento de plântulas, com melhor aproveitamento na formação das plântulas, pois essas apresentam melhor aproveitamento de suas reservas nutricionais, o que reflete em um rápido crescimento de raízes e folhas.

A interação germinativa entre as variáveis demonstra um padrão esperado, pois o IVG é uma variável que só é obtida a partir da germinação. Comportamento análogo a emergência e suas variáveis complementares.

Vale lembrar que o nível de significância de uma matriz de correlação é uma escolha particular entre os grupos de pesquisa, onde sua variação é por uma sensação de segurança. E tendo como o base o relatório do IPCC (2010) que adaptou escalas de força, para que se tenha ideia da magnitude da incerteza quando se trabalha com variação probabilística. A partir disso, todas as discussões propostas foram trabalhadas sobre evidências fortes, podendo ser elevadas ao nível populacional da espécie.

Se tratando dos componentes principais, é interessante destacar que os eixos com os agrupamentos das variáveis são independentes entre si, não sofrendo nenhuma variação sobre as variáveis (Fraga et al., 2015), esse comportamento destaca a relevância das características inerentes a sementes, seu PMS e sua biometria, como principais influências do vigor da espécie e tendo em segundo plano o efeito do processo germinativo.

O que observamos é que novamente as características da semente mostraram relevância no sucesso ou no comportamento de cada matriz, dessa forma conhecer ou selecionar outras variáveis que demonstrem o ponto de maturação em seu estado ótimo será fundamental para o sucesso da propagação da espécie.

Além de identificar a relevância das variáveis, abrisse a possibilidade da seleção dos indivíduos, que se agrupando pela variação geral de suas características, o que irá mostrar um comportamento da população e não somente por indivíduo (Hongyu et al., 2015).

A classificação das sementes por tamanho ou por peso é uma estratégia que pode ser adotada para uniformizar a emergência das plântulas e para a obtenção de mudas de tamanho semelhante ou de maior vigor (Carvalho et al., 2000), não esquecendo que, as variações biométricas estão relacionadas ao ambiente de origem da árvore (Rodrigues et

al., 2006) mais as variações genéticas existentes, o que causa variações dentro e entre indivíduos (Santos et al., 2009).

Cruz et al. (1994) indicam que valores altos da estimativa da repetibilidade do caráter, indicam que é possível predizer o valor real do indivíduo com um número relativamente pequeno de medições, indo de encontro com a metodologia rotineira para representação da biometria de 30 sementes por lote, dessa forma, um número maior na amostragem não traria ganho em acurácia (Vasconcelos et al., 1985).

1.5 CONCLUSÃO

O número amostral de 20 matrizes foi o suficiente para representar a população, e dentre as variáveis trabalhadas, o peso de mil sementes foi o que melhor apresentou variação e relação com a formação de mudas no processo de emergência, mas seu comportamento com referências a maturidade fisiológica abrem a possibilidade de se usar as variáveis biométricas como padrões de qualidade em relação ao tamanho e sua forte ligação com o peso de mil sementes.

A otimização da biometria pelo coeficiente de repetibilidade viabiliza a utilização das variáveis como padrões de qualidade, e de certa forma as características das árvores matriz não foram relevantes para a seleção dos melhores indivíduos.

Recomenda-se a seleção de outras variáveis para aplicação em trabalhos futuros, que demonstrem o vigor e qualidade fisiológica da espécie, desde variáveis relacionadas a semente até teste em progênies, sempre visando a seleção de matrizes superiores.

1.6 AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa e auxílio financeiro que apoiaram meu trabalho. Ao CSNAM que cedeu os materiais juntamente com seus colaboradores que contribuíram de alguma forma no apoio e desenvolvimento dos experimentos.

1.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar, I. B. DE; Pina-Rodrigues, F. C. M.; Figliolia, M. B. **Sementes Florestais Tropicais**. Brasília: 1993.

Amaro, H. T. R. et al. Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 383–389, 2015.

Andrade, V. H. F. **Modelos de crescimento para *Hymenaea courbaril* L. e**

Handroanthus serratifolius (Vahl) S.O. Grose em floresta de terra firme utilizando análise de anéis de crescimento. Universidade Federal do Paraná, 2015.

Azevedo, C. P. de et al. Efeito da exploração de madeira e dos tratamentos silviculturais no agrupamento ecológico de espécies. **FLORESTA**, v. 38, n. 1, p. 53–69, 27 mar. 2008.

Barbosa, P. H. D. et al. Variabilidade de elementos meteorológicos e de conforto térmico em diferentes ambientes na Amazônia Brasileira. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 11 (17), p. 98–118, 2015.

Bianchetti, A. **Produção de sementes florestais.** Macapá: 1999.

Brasil. **Sistema Nacional de Sementes e Mudas.** Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/2003/L10.711.htm>. Acesso em: 2 maio. 2020.

Brasil. Instrução Normativa. **Ministerio do Meio Ambiente**, p. 1–55, 2008.

Brasil. **Lei nº 12.187, de 29 de dezembro de 2009.** Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Lei/L12187.htm>. Acesso em: 2 maio. 2020a.

Brasil. **Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. –Brasília: Mapa/ACS.** 2009.

Brasil. **Instruções para análise de sementes florestais.** Brasília: 2013.

Carvalho, N. M.; Nakagawa, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 4. ed. Jaboticabal: Funep: 2000.

Carvalho, N. M.; Nakagawa, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 5 edição ed. Jaboticabal: Funep: 2012.

Costa, C. J. Documentos 265: armazenamento e conservação de sementes de espécies do cerrado. **Armazenamento e conservação de sementes do Cerrado**, p. 30, 2009.

Cruz, C. .; Regazzi, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa:UFV: 1994.

Cruz, C. D. **GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics** - doi: 10.4025/actasciagron.v35i3.21251. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271–276, 11 jul. 2013.

Dancey, C. P.; Reidy, J. Estatística sem matemática para psicologia: Usando SPSS para Windows. Porto Alegre: Artmed: 2006.

Dal'Col Lúcio, A. et al. Relações entre variáveis nas análises de sementes de espécies florestais nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 697–704, jun. 2007.

Dias, D. C. F. S. Maturação fisiológica de sementes: o processo. **Seed News**, v. 5, n. 6, p. 22–24, 2001.

Dousseau, S. et al. Germinação de sementes de tanchagem (*Plantago tomentosa* Lam.): influência da temperatura, luz e substrato. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 438–443, abr. 2008.

Edwards, T. I. Relations of germinating soy beans to temperature and length of incubation time. **Plant Physiology**, v. 9, n. 1, 1934.

Felix, F. C.; Medeiros, J. A. D. DE; Pacheco, M. V. Morfologia de sementes e plântulas de *Handroanthus impetiginosus* (Mart . ex DC .) Mattos. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 1, p. 1028–1035, 2018.

Ferreira, L.; Chalub, D.; Muxfeldt, R. **Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia: *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nichols**. Manaus: 2004. Disponível em: <<http://www.rsa.ufam.edu.br>>.

Figliolia, M. B. **Conservação de sementes de essências florestais**, 1998.

Fonseca, F. L. et al. Maturidade fisiológica das sementes do ipê amarelo , *Tabebuia chrysotricha* (Mart . Ex DC .) Standl. **Scientia Florstalis**, n. 69, p. 136–141, 2005.

Fraga, A. B. et al. Multivariate analysis to evaluate genetic groups and production traits of crossbred Holstein × Zebu cows. **Trop Anim Health Prod**, p. 1–6, 2015.

Garcia, L.; Sousa, S. de; Lima, R. DE. Seleção de matrizes, coleta e manejo de sementes florestais nativas da Amazônia. **Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos**, 89, p. 20, 2011.

Haig, D.; Westoby, M. Seed size, pollination, cost and angiosperm success. **Evolutionary Ecology**, v. 5, n. 3, p. 231–247, 1991.

Higuchi, N.; Santos, J. dos; Lima, A. J. N. **Biometria florestal**. p. 141, 2008.

Hongyu, K.; Sandanielo, V. L. M.; Oliveira-jr, G. J. **Análise de Componentes Principais :**

resumo teórico , aplicação e interpretação. **E&S - Engineering and Science**, v. 1, n. August, p. 83–90, 2015.

IBÁ. **Relatório 2019**, 2019.

INPE. **PRODES - Amazônia**. Disponível em: <<http://www.obt.inpe.br/OBT/assuntos/programas/amazonia/prodes>>. Acesso em: 2 maio. 2020.

INTERACADEMY COUNCIL. **Climate change assessments Review of the processes and procedures of the IPCC. Committee to Review the Intergovernmental Panel on Climate Change New Directions for Youth Development** Amsterdam, Holanda, dez. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24589852>>

Leão, N. V. M. et al. Biometria e diversidade de temperaturas e substratos para a viabilidade de sementes de ipê amarelo. **Informativo Abrates**, v. 25, n. 1, p. 50–54, 2015.

Lima Júnior, M. DE J. V. **Manejo de sementes para cultivo de especies florestais da Amazônia**. Manaus, AM: 2016.

Lopes, A. C. A.; Nascimento, W. M. Amostragem de Sementes para Análise em Laboratório. **Circular Técnica 81**, 2009.

Maeda, J. A.; Matthes, L. A. F. Conservação de sementes de ipê. **Bragantia**, v. 43, n. 1, p. 51–61, 1984.

Maguire, J. D. Speed of Germination—Aid In Selection And Evaluation for Seedling Emergence And Vigor1. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176, 1962.

Martins, L.; DO Lago, A. A.; de Andrade, A. C. S. Teor de água, temperatura do ambiente e conservação de sementes de ipê-roxo. **Revista Arvore**, v. 36, n. 2, p. 203–210, 2012.

Martins, L.; Lago, A. A. do; Sales, W. R. M. Conservação de sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex A. DC.) standl.) em função do teor de água das sementes e da temperatura do armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p. 86–95, 2009.

Martins, M. **Viabilidade de sementes de *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos armazenadas nos frutos**. Universidade Estadual Paulista, 2014.

Marto, G. **Instituto de pesquisa e estudos florestais - IPEF**. Disponível em:

<<https://www.ipef.br/identificacao/tabebuia.alba.asp>>. Acesso em: 7 abr. 2020.

Medeiros, A. C. S.; Abreu, D. C. A. Instruções para testes de germinação de sementes florestais nativas da mata atlântica. **Comunicado Técnico Embrapa Florestas**, n. 151, p. 1–5, 2005.

Mekdece, F. S.; Almeida, E. C. DE; Rayol, B. P. **Manual de Sementes Florestais do Oeste do Pará: coleta, beneficiamento e análise**. 1º Ed. ed. [s.l.] Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas, Laboratório de Sementes Florestais., 2013.

Oliveira de Lucena, E. et al. Biometria e qualidade fisiológica de sementes de juazeiro (*Ziziphus Joazeiro marth.*) de diferentes matrizes do semiárido paraibano. **AGROPECUÁRIA CIENTÍFICA NO SEMIÁRIDO**, v. 13, n. 4, p. 275, 13 dez. 2017.

Roberts, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Techonology**, v. 1, p. 499–514, 1973.

Rodrigues, A. C. da C. et al. Biometria de frutos e sementes e grau de umidade de sementes de angico (*Anadenanthera colubrina* (VELL.) BRENAN VAR. cebil (GRISEB.) ALTSCHUL) procedentes de duas áreas distintas. **Revista Científica Eletrônica De Engenharia Floresta**, p. 1–15, 2006.

Sampaio, D. S. Biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes no cerrado e variações no sistema de autoincompatibilidade. Universidade Federal de Uberlândia, 2010.

Santos, E. M. dos; Campos, R. A. S. Germinação de sementes de ipê -amarelo *Tabebuia ochracea* (Chamb.) Standl. (BIGNONIACEAE) EM DIFERENTES SUBSTRATOS. n. 1, p. 4, 2009.

Santos, F. S. dos et al. Biometria e qualidade fisiológica de sementes de diferentes matrizes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart . Ex A . DC .) Standl. **Scientia Forestalis, Piracicaba**, v. 37, n. 82, p. 163–173, 2009.

Scheeren, B. R. et al. Qualidade fisiológica e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 35–41, set. 2010.

Silva, B. M. da S. E; Carvalho, N. M. de. Efeitos do estresse hídrico sobre o desempenho germinativo da semente de faveira (*Clitoria fairchildiana* R.A. Howard. - Fabaceae) de

diferentes tamanhos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 55–65, 2008.

Silva, M. T. et al. **Maturidade fisiológica de sementes de ipê-amarelo – *Handroanthus chrysotrichus* (MART. EX A. DC.) MATTOS**. IV SEEFLORA-BA, IV Semana de Engenharia Florestal da Bahia e I mostra da Pós-Graduação em Ciências Florestais da UESB - Perspectiva das florestas plantadas brasileiras. **Anais...** Vitória da Conquista -BA: 2016

Ter Steege, H. et al. Hyperdominance in the Amazonian Tree Flora. **Science**, v. 342, n. 6156, p. 1243092–1243092, 18 out. 2013.

Valente, M. S. F. et al. Repeatability of biometric and fruit and seed yield traits of sachá inchi. **Acta Amazonica**, v. 47, n. 3, p. 195–202, jul. 2017.

Vasconcelos, M. E. C. et al. Métodos de estimação do coeficiente de repetibilidade no melhoramento da seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 433–437, 1985.

Vieira, R. D.; Carvalho, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: Funep: 1994.

CAPÍTULO 2:

Estimativa de viabilidade polínica para conservação de pólen de *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estimar a viabilidade polínica em genótipos de *H. serratifolius*. Para isso, foram coletadas flores de cinco indivíduos e em diferentes estágios florais para estimativa de pólen viável pelo teste colorimétrico com diferentes corantes: Tetrazolio, Azul de trypan e Cotton blue, os mesmos indivíduos foram submetidos a testes germinativos com dois meios de culturas, um controle, a base de ágar e sacarose, e um outro com adição de cálcio, outros três genótipos distintos foram coletados afim de se conhecer o ponto crítico para o armazenamento, onde este foram armazenados em freezer -20 °C e avaliados (fresco, após 1 mês, após 3 meses e após 6 meses) pelos testes colorimétricos e germinativos, foram feitas análises de variância entre os genótipos por variáveis, feitas no software Rbio. Dessa forma, tanto os corantes quanto os diferentes estágios florais não apresentaram diferenças entre si, e de maneira geral a porcentagem de pólen viável variou na faixa de 65 a 80 %, já para os diferentes meios de cultura, a adição de cálcio mostrou um comportamento mais satisfatório quando comparado com o meio controle, chegando 30 % de germinação em alguns casos, mas não demonstrou o potencial apresentado nos testes colorimétricos, em relação ao armazenamento os polens que foram guardados em freezer perderam seu poder germinativo mas apresentaram alta porcentagem de pólen viável pelo método colorimétrico variando entre 80 a 90 %, não apresentando diferenças entre os períodos de tempo. Com isso, o presente trabalho possibilitou demonstrar o potencial polínico da espécie e servira de apoio para futuros trabalhos que pretendem determinar o potencial germinativo mais satisfatório além da criação de um protocolo de armazenamento.

Palavras – chave: conservação de pólen, testes diretos, teste indiretos.

ABSTRACT

The objective of this work was to estimate the pollen viability in genotypes of *H. serratifolius*. For this, flowers were collected from five individuals and in different floral stages to estimate viable pollen by the colorimetric test with different dyes: Tetrazolio, Trypan blue and Cotton blue, the same individuals were submitted to germinative tests with two culture media, one control, the base of agar and sucrose, and another with the addition of calcium, three other distinct genotypes were collected in order to know the critical point for storage, where they were stored in a freezer -20 ° C and evaluated (fresh,

after 1 month, after 3 months and after 6 months) by colorimetric and germinative tests, analyzes of variance between the genotypes by variables were made using the Rbio software. Thus, both the dyes and the different floral stages did not show any differences, and in general the percentage of viable pollen varied in the range of 65 to 80%, whereas for the different culture media, the addition of calcium showed a behavior more satisfactory when compared to the control medium, reaching 30% germination in some cases, but did not demonstrate the potential presented in the colorimetric tests, in relation to the storage the pollens that were stored in a freezer lost their germinative power but presented a high percentage of viable pollen by the colorimetric method ranging from 80 to 90%, with no differences between time periods. With this, the present work made it possible to demonstrate the pollen potential of the species and will serve as support for future works that intend to determine the most satisfactory germinative potential in addition to the creation of a storage protocol.

Keywords: pollen viability, direct tests, indirect tests.

2.1 INTRODUÇÃO

H. serratifolius, vulgarmente conhecido como ipê amarelo é uma espécie muito utilizada na indústria madeireira, mas também empregada no paisagismo e reflorestamento. Com o retorno econômico evidente, a espécie no aspecto ecológico vem sofrendo pressões pela sua grande exploração e avanço do desmatamento.

Com um possível risco de extinção, a espécie já vem sofrendo com o isolamento de seus indivíduos e mesmo sendo uma espécie de fecundação cruzada ela vem se adaptando ao isolamento e desenvolveu mecanismo de sobrevivência podendo se autofecundar caso não haja interação intraespecífica (Sampaio, 2010), mostrando uma evolução de seus mecanismos de propagação, mas resulta em perda de variabilidade genética com o passar das gerações e perda de características superiores, inviabilizando o melhoramento genético.

Para espécies florestais sob forte pressão antrópica é necessário criar estratégias de ampliação da variabilidade genética visando reduzir riscos de extinção. Indivíduos isolados pelo desmatamento podem ser regatados por propagação vegetativa, mas perdem quanto ao poder adaptativo em curto prazo no processo evolutivo por não participar de acasalamentos com outros indivíduos de outras populações. Para que os indivíduos isolados com dificuldade de perpetuação possam deixar descendentes e seus genes para a

próximas gerações, a conservação do pólen é uma estratégia que viabiliza cruzamentos controlados para a produção de sementes e auxilia na ampliação da variabilidade genética. A conservação do pólen para uso em cruzamentos artificiais apresenta-se como uma estratégia para a sobrevivência das espécies vegetais (Casaca, 2010).

O conhecimento da proporção de pólen viável ao longo do tempo vem sendo estudada visando definir protocolos de conservação, para uso do pólen em hibridações artificiais visando a ampliação da variabilidade genética em programas de melhoramento genético de diferentes espécies vegetais (Santos et al., 2015). Altas porcentagens de viabilidade do pólen influenciam diretamente no sucesso da fertilização (Pozzobon et al., 2011; Cabral et al., 2013). Na prática, para os programas de melhoramento, o pólen armazenado *in vitro* com qualidade para uso em hibridações controladas possui viabilidade polínica igual ou superior a 70%. Para definir metodologias de conservação de pólen é necessário conhecer aspectos relacionados a biologia floral da espécie e conhecimentos sobre os métodos de conservação (Chagas et al., 2010).

A obtenção da proporção do pólen viável é rotineiramente feita por testes diretos ou germinativos como também por testes colorimétricos de forma indireta (Techio et al., 2006). Os testes germinativos são normalmente ajustados em meio semissólido a base de ágar, pois esse facilita a absorção de açúcares e outros nutrientes além de manter sua umidade (Stanley et al., 1974). Os corantes mais utilizados na determinação da viabilidade polínica de forma indireta são: carmim acético, azul anilina, azul de algodão, iodeto de potássio, cloreto de trifeniltetrazólio e tetrazólio vermelho (Stanley et al., 1974; Shivanna et al., 1992; Sharma et al., 1994).

As metodologias de avaliação de viabilidade de pólen têm sido utilizadas com eficiência para monitorar a conservação do pólen ao longo do tempo. Para otimização de uma metodologia é necessário definir o melhor corante, a sua concentração e o tempo de uso para uso do método indireto e a combinação ideal de componentes para criação do meio de cultura que melhor induza a germinação no método direto, como foi feito com outras espécies, onde podemos citar a *Bertholletia excelsa* Bonpl., *Psidium cattleianum* Sabine, *Bixa orellana* L e o *Eucalipto spp.* (Hister et al., 2016; Santos et al., 2015; Schmitt et al., 2015; Sousa, 1988).

Para avançar em metodologias de conservação e armazenamento de pólen de *H. serratifolius* foi proposta a caracterização da proporção de pólen viável por métodos

colorimétricos e germinativos num período de seis meses, visando futuras pesquisas na área de conservação e melhoramento genético da espécie.

2.2 MATERIAS E MÉTODOS

2.2.1 Material vegetal e local dos experimentos

Foram coletadas flores de três genótipos de *H. serratifolius*, localizados na cidade de Manaus, no perímetro da Universidade Federal do Amazonas e outros dois indivíduos na Embrapa Ocidental, AM-010 (Tabela 1). Para os ensaios de determinação de metodologias adequadas para estudo da viabilidade polínica.

Tabela 1: Coordenadas geográficas dos genótipos coletados para os experimentos de determinação das metodologias para estudo da viabilidade de pólen direta e indireta.

Genótipos	Coordenadas geográficas
1 – Embrapa Ocidental	2°53'39" S 59°58'17" W
2 – Embrapa Ocidental	2°53'38" S 59°58'16" W
3 - UFAM	3°05'50" S 59°59'04" W
4 - UFAM	3°05'50" S 59°59'04" W
5 - UFAM	3°05'49" S 59°59'04" W

Para definição de metodologias colorimétricas e de germinação, foram coletadas flores em diferentes estágios florais: broto, flor fechada e flor aberta (Figura 1), no período de julho a agosto de 2019. A coleta do material foi feita com auxílio de um podão e escada quando necessário.



Figura 1: Estágios florais: broto, flor fechada e flor aberta de *H. serratifolius*.

A seleção das flores foi feita de maneira visual por meio da observação da coloração das anteras que estavam com coloração amarelo-claro. Os testes foram realizados no laboratório do Centro de Sementes Nativas do Amazonas –UFAM e laboratório de Cultura de Tecidos na Embrapa Ocidental.

Para definir a hora ideal para coleta da estrutura floral com maior quantidade e viabilidade de pólen, as flores foram coletadas em horários alternados entre manhã e tarde, com três coletas ao dia, próximo as 10 horas, próximo as 14 e próximo as 16 horas o intuito era encontrar indivíduos em estágios florais distintos.

Para o estudo da viabilidade de pólen armazenado, foram coletadas flores abertas dos genótipos localizados no perímetro da Universidade Federal do Amazonas (Tabela 2) e as análises foram feitas no laboratório do Centro de Sementes Nativas do Amazonas. As flores foram coletadas no mês de agosto de 2019.

Tabela 2: Coordenadas geográficas dos genótipos utilizados para o estudo de viabilidade de pólen armazenado.

Genótipos	Coordenadas geográficas
1	3°05'49" S 59°59'04" W
2	3°06'03" S 59° 58'59" W
3	3°05'57" S 59°58'41" W

2.2.2 Determinação da viabilidade de pólen

O pólen extraído de diferentes estágios florais foi analisado por testes colorimétricos e o pólen extraído das flores abertas foi submetido também ao método germinativo.

2.2.2.1 Determinação da viabilidade de pólen por métodos colorimétricos

Para o teste colorimétrico, as anteras foram removidas do filete com o auxílio de uma pinça e o preparo das lâminas foi feito por meio da compressão das anteras entre a lâmina e lamínula para liberação do pólen, sendo esse procedimento feito com 4 anteras por lâminas, em seguida com utilização de uma pinça realizou-se a remoção do tecido vegetal da antera e aplicação do corante com auxílio de uma pipeta mecânica graduada para 100 mL.

Foram utilizados três corantes: 1) Tetrazólio (0,1 %) (Lakon, 1949) que reage por volta de duas horas após sua aplicação, sendo sua lâmina isolado com papel laminado por ser um composto fotossensível; 2) Cotton blue (0,05 %) (Nicolson, 1959) que tem reação em até trinta minutos e tendo sua lâmina colocado sobre papel úmido em uma placa de petri; e por fim, 3) Azul de trypan (0,2 %) (Hayman, 1970) que reage em cinco minutos.

As lâminas com Tetrazólio (0,1 %) e Cotton blue (0,05 %) foram colocadas em incubadora BOD em temperatura de 37 °C pelo tempo da reação do corante e as lâminas de Azul de trypan (0,2 %) permaneceram em temperatura ambiente. Para a determinação da viabilidade polínica por coloração, foram contabilizados como pólen viáveis aqueles com cor vermelha quando se usou o Tetrazólio (0,1 %), os com cor azul quando se usou o corante Cotton blue (0,05 %) e os pólen que não coraram ou tiverem pouca coloração quando se usou Azul de trypan (0,2 %).

A contagem foi feita em microscópio, com objetiva de 20 vezes, sendo feita uma varredura para contagem de 200 pólen por visada feita duas vezes por lâmina, sendo o resultado final a média das varreduras. A porcentagem de pólen viável foi uma relação entre o número de pólen viáveis com o número de pólen contado multiplicado por 100.

O experimento se enquadrou em uma análise de fatorial duplo com repetições, onde os estágios florais e os diferentes corantes são os fatores e os indivíduos as repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste não paramétrico de Kruskal Wallis e as médias dos tratamentos submetidas à análise de comparação múltipla utilizando o teste de Bonferroni com nível de significância de 5%. As análises foram realizadas no software Action Stat (ESTATCAMP, 2014).

2.2.2.2 Determinação da viabilidade de pólen por germinação in vitro

Os testes de germinação foram realizados em meio de cultura semissólido ajustados em pH de aproximadamente 5,8. Foram coletadas seis flores abertas por indivíduos e divididas para dois tratamentos de germinação de pólen. O controle foi realizado em meio com 0,6 g de ágar e 6 g de sacarose. Para o preparo do outro tratamento além das proporções de ágar e de sacarose usados no preparo da solução controle, foi adicionado 0,08 g de CaCl. Os dois tratamentos foram dissolvidos em 60 ml de água destilada e fundidos em micro-ondas até a solidificação do meio, cada solução gerou 3 repetições por meio de cultura preparado.

As anteras foram removidas e colocadas em microtubos de 2 mL com água destilada e esmagadas nas laterais do microtubo com o auxílio de uma pinça para liberação do pólen. Com uma pipeta mecânica graduada para 100 µL a mistura água destilada mais pólen foi aspergida sobre os meios de cultura e espalhada com o auxílio de uma alça de drigalsky até a cobertura de toda superfície. Os meios foram colocados em incubadora BOD, por 24 horas, em temperatura em torno de 37 °C.

Após 24 horas os meios foram retirados da incubadora para a contagem dos pólenes que germinaram, cujo critério utilizado foi a presença do tubo polínico superior ao tamanho do pólen analisado (Cysne et al., 2015). A contagem foi feita em microscópio com objetiva a 20 vezes e o resultado da germinação foi obtido por meio da média das três repetições por tratamento germinativo. A porcentagem de germinação foi obtida a partir da relação de pólenes germinados divididos pelo número de pólenes totais multiplicados por 100, e o espaço amostral foi de 200 pólenes germinados.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com arranjo de 5 x 2, cinco indivíduos e dois métodos germinativos. O efeito de genótipos e do cálcio foi analisado pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis e as médias dos tratamentos submetidas à análise de comparação múltipla utilizando o teste de Bonferroni com nível de significância de 5%. As análises foram realizadas no software Action Stat (ESTATCAMP, 2014).

2.2.2.3 Determinação da viabilidade de pólen armazenado

Para a análise viabilidade de pólen armazenado, as anteras foram removidas e depositadas em microtubos de 2 mL forrados internamente com algodão, sendo a metodologia de armazenamento adaptada de Flores et al., (2015), em seguida armazenados em freezer a -20 °C.

O pólen armazenado foi analisado pelo teste de coloração, a partir da metodologia colorimétrica adequada para a espécie (item 2.2.1), com o corante que demonstrou o melhor comportamento e também foram feitos testes germinativos com os dois tratamentos (2.2.2), ambos procedimentos foram realizados para os 4 períodos propostos: 0, 1, 3 e 6 meses de armazenamento.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com arranjo fatorial 3 x 4, sendo três indivíduos para quatro períodos de tempo, tanto para teste indireto como direto. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste não paramétrico de

Kruskall Wallis e as médias dos tratamentos submetidas à análise de comparação múltipla utilizando o teste de Bonferroni com nível de significância de 5%. As análises foram realizadas no software Action Stat (ESTATCAMP, 2014).

2.3 RESULTADOS

Observou-se que a maior quantidade de pólen para flores abertas era encontrada no horário da manhã entre 10 as 12h. No decorrer do dia a flor aberta liberava seu pólen e apresentava uma mudança de coloração de antera, entre amarelo claro para antera carregada de pólen, normalmente coletados por volta das 10 h da manhã e amarelo escuro ou enegrecida para antera com pouco ou nenhum resquício de pólen, com observações comuns por volta das 14 h, os demais estágios florais não apresentaram diferenças para quantidade de pólen em relação ao horário de coleta.

2.3.1 Viabilidade de pólen por métodos colorimétricos

Não houve diferença significativa entre os corantes como também entre os estágios florais além da não interação entre esses fatores (Tabela 3), onde $p > 0,05$ em todos os parâmetros, fora do limite de erro.

Tabela 3 - Análise de variância com 3 métodos colorimétricos e 3 três estágios de florais, com 5 repetições.

	GL	SQ	QM	Fc	Pr	
F1	2	584,1	292,07	1,96497	0,15491	<i>ns</i>
F2	2	776,9	388,44	2,61331	0,08715	<i>ns</i>
F1*F2	4	475,6	118,9	0,79994	0,53323	<i>ns</i>
Resíduos	36	5351,0	148,64			
Total	44	7187,7				

FATOR 1 (F1) = Métodos colorimétricos (AT, CB e TZ), **FATOR 2 (F2)** = Estágio da flor (A – flor aberta, F – flor fechada e B – botão).

Não houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre as médias dos genótipos pelo teste de Kruskal Wallis (Tabela 4), variando entre 64,51 a 72,46%, e entre os corantes apenas o Cotton Bluen apresentou diferença significativa entre os estágios florais, onde as flores fechadas (66,25%) e os brotos (66,32%) não apresentaram diferenças entre si apresentam valores inferiores quando comparados as flores abertas (82,44%), para Azul de Trypan a variação entre os estágios florais foi de 58,36 a 69,75% e para o Tetrázólio a variação foi de 67,14 a 69,95%.

Tabela 4 – Valor médios de viabilidade polínica de cinco genótipos de *Handroanthus serratifolius* usando os métodos de coloração (Cotton blue, Azul de trypan e Tetrázólio) em diferentes estágios florais: flor aberta, flor fechada e broto.

	Embrapa 1	Embrapa 2	UFAM 3	UFAM 4	UFAM 5		
Cotton blue						Média	CV (%)
Flor aberta	86,08	80,18	82,59	79,80	83,57	82,44 a	3
Flor fechada	61,84	70,23	68,35	73,25	57,56	66,25 b	10
Broto	66,52	67,73	76,35	66,62	54,38	66,32 b	12
Azul de trypan							
Flor aberta	76,04	49,35	89,57	64,95	68,86	69,75 a	21
Flor fechada	34,88	69,88	78,80	67,43	52,58	60,72 a	28
Broto	52,41	35,50	50,84	86,60	66,45	58,36 a	32
Tetrazólio							
Flor aberta	78,96	71,10	49,83	74,21	67,09	68,24 a	16
Flor fechada	81,97	76,82	62,15	71,74	57,07	69,95 a	15
Broto	52,16	80,34	62,58	67,55	73,06	67,14 a	16
Média	65,65 A	66,79 A	69,01 A	72,46 A	64,51 A	67,69	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e da mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni.

2.3.2 Viabilidade de pólen por germinação in vitro

O teste de Kruskal Wallis indicou a existência de diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as médias dos genótipos, tanto no meio sem cálcio como no meio com cálcio, assim como, diferenças entre as médias dos meios com e sem cálcio (Tabela 5).

A germinação média de pólen no meio sem cálcio (4,36%) foi estatisticamente inferior à germinação no meio com cálcio (21,58%). No meio sem cálcio as taxas de germinação de pólen dos genótipos UFAM 4 (7,57%) e Embrapa 1 (6,88%) foram superiores à dos genótipos Embrapa 2 (1,49%) e UFAM 5 (1,3%), enquanto a do genótipo UFAM 3 não diferiu estatisticamente da taxa de germinação de pólen de nenhum dos outros genótipos. No meio com cálcio a taxa de germinação de pólen dos genótipos Embrapa 2 (32,46%) e UFAM 3 (31,87%) foram superiores à dos genótipos UFAM 4 (13,45%) e Embrapa 1 (11,88%), enquanto a do genótipo UFAM 5 (18,24%) não diferiu estatisticamente da taxa de germinação de pólen de nenhum dos outros genótipos.

Considerando do efeito do cálcio na germinação de cada genótipo, apenas para o genótipo Embrapa 1, as taxas de germinação de pólen nos meios com e sem cálcio não diferiram estatisticamente, para os outros demais genótipos a germinação de pólen no meio com cálcio foi estatisticamente superior a germinação no meio sem cálcio.

Tabela 5 - Análise de comparações múltiplas com delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com dois tratamentos (meios de cultura sem cálcio e com cálcio) e com repetições.

Genótipos	Meio					
	Sem cálcio			Com cálcio		
Embrapa 1	6,88	a	A	11,88	b	A
Embrapa 2	1,49	b	B	32,46	a	A
UFAM 3	4,57	ab	B	31,87	a	A
UFAM 4	7,57	a	B	13,45	b	A
UFAM 5	1,3	b	B	18,24	ab	A
Médias	4,36	B		21,58	A	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e da mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni.

2.3.3 Viabilidade de pólen armazenado

Mesmo com variações entre os períodos eles não foram diferentes entre si (Tabela 6), quando comparados pela análise de variância, onde $p > 0,05$ como limite de erro.

Tabela 6 - Análise de variância pelo delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos (0, 1, 3 e 6 meses de armazenamento), com 3 repetições (3 árvores).

	GL	SQ	QM	Fc	Pr	
Tratamentos	3	313,07	104,357	1,545	0,27642	<i>ns</i>
Resíduos	8	540,36	67,545			
Total	11	853,43				

Não houve diferença significativa pelo teste de Kruskal Wallis entre os genótipos quando avaliados pelo teste colorimétrico Cotton Blue, que tiveram valores médios com variação de 78,26 a 91,55%, e entre os períodos de armazenamento a variação foi de de 78,82 a 90,85% que também não apresentaram diferença entre si (Tabela 7).

Tabela 7 - Médias de viabilidade de pólen de três genótipos de *H. serratifolius* usando o método de coloração Cotton Blue em 4 períodos de armazenamento: zero (momento da coleta), um, três e seis meses.

Genótipos	Fresco	1 mês	3 meses	6 meses	Médias
-----------	--------	-------	---------	---------	--------

UFAM 6	68,01	91,69	82,80	70,54	78,26 a
UFAM 7	85,08	92,06	97,03	92,05	91,55 a
UFAM 8	83,38	86,48	92,73	84,34	86,73 a
Médias	78,82 A	90,08 A	90,85 A	82,31 A	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e da mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni.

Ao avaliarmos a viabilidade pela germinação in vitro observamos uma resposta apenas com o material fresco, e no decorrer das observações não houve retorno germinativo nas repetições e a partir disso não foi feito nenhum tipo de análise.

2.4 DISCUSSÃO

2.4.1 Viabilidade de pólen por métodos colorimétricos

Valores da porcentagem da viabilidade polínica acima de 70% são considerados altos e abaixo de 30% são baixos e dentro desse intervalo são de categoria mediana, demonstrando que os valores deste trabalho são considerados de médios a altos independente do estágio floral (Souza et al., 2002).

As espécies pertencentes a família da Bignoniaceae apresentam alta viabilidade polínica, como *Pyrostegia venusta* quando testada sua viabilidade polínica por teste colorimétrico com Carmim acético 2% em diferentes estágios florais e períodos diários, mostrou valores médios para os botões florais de 90,7% e para flores abertas colhidas as 6:30 h a viabilidade foi de 97,4% e de 90,7% para as colhidas as 14:30 h (Schmitt et al., 2013).

A variação da resposta entre os indivíduos é explicada pela subjetividade na interpretação individual de quem opera o microscópio, e a diferença entre os estágios florais é provavelmente causada pela quantidade de água presente, por questões de

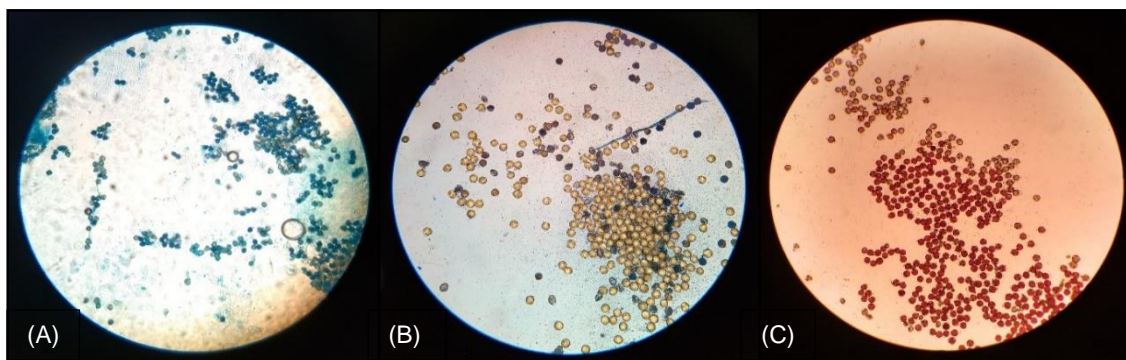


Figura 2 - Comparação visual entre os corantes: (A) Cotton blue, (B) Azul de trypan e (C) Tretazólio.

maturidade fisiológica, o que dificulta o deslocamento do corante e conseqüentemente a não reação mesmo nenhum corante demonstrou dificuldade de interpretação entre pólenes viáveis e inviáveis (Figura 2).

Mesmo indicando que os corantes apresentaram a mesma eficácia na representação da viabilidade polínica da espécie e o efeito do estágio floral não influenciou na proporção dessa viabilidade, o Cotton Blue (0,05%) apresenta um tempo de reação mais aceitável em relação ao Tetrazolio (0,1%) que reage em duas horas e mesmo o Azul de Trypan (0,2%) reagindo em cinco minutos ele cora tecido morto e se não for feita a leitura após o tempo de reação a perda de viabilidade com o decorrer do tempo promove mais reações com os tecidos mortos o que acarreta uma interpretação errada da proporção viável, e para questões de otimização dos experimentos torno o Cotton Blue (0,05%) o mais indicado.

Outra característica entre as respostas dos corantes foi que os resultados apresentados pelo Cotton Blue (0,05%) foram mais homogêneos, o que permite maior segurança na discriminação da análise de viabilidade, levando em consideração seus coeficientes de variação, onde valores abaixo de 10% são considerados baixos (Gomes, 1990), além de apresentar um bom contraste para distinção entre pólenes viáveis e não viáveis e menor variação em experimentos controlados quando utilizado para caracterizar pólenes de *Euterpe oleracea* (Abreu, 2019).

A viabilidade polínica da *B. excelsa* também não apresentou diferença entre os corantes, Reativo de Alexander, Carmim acético e Lugol, mas o primeiro pela facilidade de interpretação entre pólenes viáveis e inviáveis foi o indicado para caracterização da proporção do pólen viável, demonstrando uma característica que facilitou o processo produtivo (Santos et al., 2013).

2.4.2 Viabilidade de pólen por germinação in vitro

Mesmo demonstrando que a adição de cálcio ao meio apresentou uma resposta mais satisfatória que o meio controle, essa não foi suficiente para espelhar o potencial da viabilidade apresentado pelos testes colorimétricos, e o baixo número de tratamentos exemplifica a necessidade de se buscar o melhor método germinativo.

Onde diferentes proporções de boro em meios de cultura em diferentes ambientes com pólenes de *Ceiba speciosa* apresentou variação entre os ambientes e as proporções de boro, onde a germinação em freezer apresentou os melhores resultados e a proporção de

0,001 g/L a maior porcentagem, com 63,1%, mas de maneira geral os valores variaram de 20 a 60% (Arenas de Souza et al., 2014).

O meio de cultura com 10 g/l de sacarose e 0,01 g/l de ácido bórico em temperatura controlada de 28 °C com pólenes de *Solanum paniculatum* demonstra uma resposta que varia de 16,7 a 34,8% entre seis populações testadas (Neto et al., 2006).

A utilizam de dois meios de cultura, um controle e outro com proporções de cálcio, magnésio, potássio e boro, em temperatura de 25 °C com pólenes de *Carica papaya*, apresenta uma germinação média de 65% para o meio controle e de 51,5% para o outro tratamento (Munhoz et al., 2008).

O que podemos observar é a existência de infinitas possibilidades de combinações para se encontrar a melhor metodologia para condução do processo germinativo, valendo ressaltar que outros fatores devem ser levados em consideração para que se possa encontrar a melhor metodologia que induza a germinação para resultados mais satisfatórios, como diferentes temperaturas, tempo de incubação e nutrientes, podendo incluir a proporção de umidade do material, espécie trabalhada e ambiente (Taylor et al., 1997).

Recomenda-se a criação de outras combinações para formulação de meios de cultura que representem as melhores condições para o desenvolvimento do tubo polínico ou propor protocolos de coleta e armazenamento, além da melhor temperatura de germinação, proporção de umidade, afim de demonstrar uma germinação in vitro mais satisfatória para espécie.

2.4.3 Viabilidade de pólen armazenado

Para conservação da espécie o ideal é descobrir o limite crítico, forçando o armazenamento para períodos maiores de tempo para que se possa controlar futuros programas genéticos que utilizem a espécie como fonte de material de propagação, pois esta apresentou potencial na viabilidade polínica pelo método colorimétrico, mas a metodologia para o processo germinativo após armazenamento se mostrou ineficaz.

Provavelmente o teor de umidade do material tenha contribuído para o resultado exposto da germinação e o não conhecimento deste promove tomadas de decisões talvez equivocadas, onde, muita umidade promove a formação de cristais de gelo no momento

do armazenamento e um material muito seco perde sua capacidade de ativar o seu poder germinativo (França, 2008).

Outros fatores devem ser levados em consideração no momento do armazenamento, como, estagio da flor, temperatura e umidade do ambiente de armazenamento (Giodarno et al., 2003) e delimitar e controlar esses fatores é o caminho a se tomar para se dominar a conservação de pólen da espécie onde o mesmo já apresentou potencial de vigor.

2.5 CONCLUSÃO

A espécie apresentou a possibilidade da criação de protocolos que trabalhem com pólen para implementação de programas de melhoramento, onde por meio de testes colorimétricos mostrou potencial com altas porcentagens de viabilidade polínica, mas em contrapartida os testes germinativos precisam de maiores contribuições para construção do meio de cultura que melhor induza o prolongamento do tubo polínico.

A metodologia para conservação de pólen para *H. serratifolius* precisa da adição de mais variáveis que caracterizem as condições do pólen, desde morfologia até proporção da quantidade de água presente para que se possa efetuar métodos mais eficazes de conservação, ou um simples ajuste do teste germinativo seja o foco principal.

2.6 AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa e auxílio financeiro que apoiaram meu trabalho. Ao laboratório de Cultura de Tecidos – Embrapa Ocidental, que cedeu os materiais juntamente com seus colaboradores que contribuíram de alguma forma no apoio e desenvolvimento dos experimentos, com também o laboratório de Melhoramento genético que apoio da mesma maneira.

2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu, M. S. DE. **Florescimento e viabilidade de pólen de açazeiros do Pará na Amazônia Ocidental**. Universidade Federal do Amazonas, 2019.

Arenas-de-Souza, M. D. et al. Germinação in vitro e viabilidade do pólen de *Ceiba speciosa* A. St. Hil. (MALVACEAE). **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer**, v. 10, n. 18, p. 1854–1861, 2014.

Cabral, J. C. et al. Estimativa da viabilidade polínica em acessos de *Theobroma cacao* L.

baseada em testes colorimétricos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 2780–2788, 2013.

Casaca, J. D. **Manual de produção de pólen e propolis**, 2010.

Chagas, E. A. et al. Composição do meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. **Ciencia Rural**, v. 40, n. 2, p. 231–266, 2010.

Cysne, A. Q. et al. Teste de Viabilidade Polínica em Dendezeiro: Uma nova proposta. **Embrapa Comunicado Técnico 116**, p. 8, 2015.

Estatcamp. **Software Action. Estatcamp - Consultoria em estatística e qualidade**. Disponível em: <<http://www.portalaction.com.br/>>. Acesso em: 14 dez. 2018.

Flores, P. S. et al. Manual para Teste de Viabilidade e Armazenamento de Pólen e Receptividade de Estigma do Amendoim Forrageiro. **Embrapa Documentos-143**, 2015.

França, L. V. DE. **Secagem e conservação de grãos de pólen de berinjela**. 2008.

Giodarno, L. B.; S., F. A. S. A.; BOITEUX, L. S. Melhoramento genético do tomateiro. **Informativo Agropecuário**, v. 24, n. 219, p. 43–57, 2003.

Gomes, F. P. **Curso de estatística experimental**. São Paulo, Nobel: 1990. v. 12

Hayman, D. S. Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 54, n. 1, p. 53–IN12, fev. 1970.

Hister, C. A. L.; Tedesco, S. B. Estimativa da viabilidade polínica de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) através de distintos métodos de coloração. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 135–141, mar. 2016.

Lakon, G. The topographical tetrazolium method for determining the germinating capacity of seeds. **Plant Physiology**, v. 24, n. 3, p. 389–394, 1 jul. 1949.

Munhoz, M. et al. Viabilidade polínica de *Carica papaya* L.: uma comparação metodológica. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, n. 2, p. 209–214, jun. 2008.

Neto, O. D. S. et al. Viabilidade e Germinabilidade Polínica de Populações de jurubeba (SOLANUM PANICULATUM L.). **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v. 4, n. 1, p. 67–74, 2006.

Nicolson, T. H. Mycorrhiza in the Gramineae. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 42, n. 4, p. 421-IN3, dez. 1959.

Pozzobon, M. T. et al. Meiose e viabilidade polínica em linhagens avançadas de pimento. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 212–216, 2011.

Sampaio, D. S. **Biologia reprodutiva de espécies de bignoniaceae ocorrentes no cerrado e variações no sistema de autoincompatibilidade**. Universidade Federal de Uberlândia, 2010.

Santos, T. A. dos. Viabilidade pólinica em bertholletia excelsa bonpl. (lecythidaceae) baseada em diferentes testes colorimétricos. in: intergovernmental panel on climate change (Ed.). . **Climate Change 2013 - The Physical Science Basis**. Cambridge: Cambridge University Press, 2013. v. 53p. 1–30.

Santos, T. A. dos et al. Viabilidade pólinica em bertholletia excelsa bonpl. (Lecythidaceae) baseada em diferentes testes colorimétricos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 22, p. 3136–3144, 2015.

Schmitt, K. F. M. et al. **Viabilidade polínica de Pyrostegia venusta (Ker-Gawl.) Miers. (Bignoniaceae) uma espécie com ocorrência na amazônia**. I seminário de biodiversidade e agroecossistemas amazônicos. **Anais...Alta Floresta-MT: 2013**

Schmitt, K. F. M. et al. Uso de testes colorimétricos na avaliação da viabilidade polínica do urucum (Bixa orellana L.). **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 22, p. 7, 2015.

Sharma, A. K.; Sharma, A. **Chromosome techniques**. Switzerland: 1994.

Shivanna, K. R.; Rangaswamy, N. S. **Pollen biology. A laboratory manual**. Berlin/New York: 1992.

Sousa, V. A. DE. **Manejo e viabilidade do pólen de Eucalyptus spp**. Piracicaba, 1988.

Souza, M.; Pereira, T. N. S.; Martins, E. R. Microsporogênese e microgametogênese

associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 6, p. 1209–1217, 2002.

Stanley, R. G.; Linskens, H. F. **Pollen: Biology, Biochemistry, Management**. Berlin: 1974.

Taylor, L. P.; Helpler, P. K. **Pollen germination and tube growth** *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1997.

Techio, V. H. et al. Viabilidade do grão de pólen de acessos de capim-elefante, milho e híbridos interespecíficos (capim-elefante x milho). **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 28, n. 1, p. 7–12, 2006.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como podemos observar, ao tratarmos da seleção de matrizes da espécie, o espaço amostral de vinte indivíduos mostrou homogeneidade no comportamento da população, podendo em trabalhos futuros ser o esforço adotado para caracterizar a espécie.

Dentre as variáveis que melhor explicaram o comportamento em relação a qualidade fisiológica das sementes o peso de mil sementes mostrou maior relevância em relação as demais, e sua alta relação com as características biométricas abrem espaço para criação de padrões de qualidade, onde essas características foram otimizadas pelo coeficiente de repetibilidade.

Mas podemos abrir espaço para outras possibilidades de variáveis que influencie o sucesso no fornecimento de sementes de qualidade, podendo realizar a coleta de outras variáveis que caracterizem as sementes ou partir para os testes com progênes.

Para a estimativa da viabilidade polínica, o primeiro instante mostrou o potencial que a espécie pode proporcionar, mas para que se possa conduzir a espécie em programas de melhoramento o ideal é encontrar o ponto crítico de armazenamento além da melhor combinação que induza a germinação do material propagativo.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brasil. **Decreto nº 5.153, de 23 de julho de 2004**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2004/decreto/D5153.htm>.

Acesso em: 3 jan. 2020.

Davide, A. C.; Silva, E. A. A. DA. **Sementes florestais. In: Davide A. C.; Silva, E. A. A. da (Ed.) . Produção de sementes e mudas de espécies florestais.**Lavras: UFLA, 2008.

Figliolia, M. B.; Aguiar, I. B. DE. **Colheita de sementes. In: Aguiar, I. B.; Pina-Rodrigues, F. C. M.; Figliolia, M. B. (Org.). Sementes florestais tropicais.**Abrates. Brasília – DF, 1993.

Garcia, L.; Sousa, S. DE; Lima, R. DE. Seleção de matrizes, coleta e manejo de sementes florestais nativas da Amazônia. **Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 89**, p. 20, 2011.

Scappa Neto, A. et al. Efeito do teor inicial de água de sementes de feijão e da câmara no teste de envelhecimento acelerado. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 4, p. 747–751, dez. 2001.

Sena, C. M. de; Gariglio, M. A. Sementes Florestais: Colheita, Beneficiamento e Armazenamento. **MMA. Secretaria de Biodiversidade e Florestas. Departamento de Florestas. Programa Nacional de Florestas**, p. 28, 2008.

TROPICOS. **Missouri Botanical Garden.** Disponível em: <<http://tropicos.org/Name/50314219>>. Acesso em: 26 mar. 2019.