

Avaliação fisiológica das sementes armazenadas em coleções de germoplasmas da Epagri¹

Valdir Diola², Mário Ângelo Vidor³ e
Miguel Pedro Guerra⁴

Resumo – Estudou-se o estado fisiológico das sementes de várias espécies mantidas nas coleções de germoplasma da Epagri por meio de testes de viabilidade, germinação e índice de vigor. Dez acessos foram amostrados para cada uma das espécies: *Phaseolus vulgaris*, *Allium cepa*, *Oriza sativa*, *Paspalum dilatatum*, *Bromus auleticus*, *Trifolium repens* e *Adesmia tristis*. A análise de dados indicou que os métodos de avaliação se prestam ao monitoramento dos acessos, cujas sementes, nestas condições, apresentaram longevidade estimada entre 18 e 32 anos e degradação fisiológica dependente da espécie e do ambiente de armazenagem.

Termos para indexação: acessos, viabilidade, germinação, índice de vigor.

Physiologic evaluation of the seeds stored in Epagri germplasm collections

Abstract –The physiological state of several species maintained at Epagri's germplasm collections was studied by means of viability and germination tests, and vigor index. Species of *Phaseolus vulgaris*, *Allium cepa*, *Oriza sativa*, *Paspalum dilatatum*, *Bromus auleticus*, *Trifolium repens* and *Adesmia tristis* had ten accessions sampled each one. By the statistical analysis it was observed that the evaluation methods were adequate for monitoring these accessions. The seeds of these accessions had viability ranging from 18 to 32 years and the physiological degradation was dependent on the species and storage conditions.

Index terms: accessions, viability, germination, vigor index.

Introdução

O estabelecimento de uma rede de conservação de germoplasma vegetal no Estado de Santa Catarina iniciou por volta de 1940. A partir de 1967 a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), por meio do Ministério da Agricultura, transferiu acessos de forrageiras para o Campo de Demonstração de Lages, atual Estação Experimental de Lages – EEL – da Epagri. Foram encontrados registros nos arquivos das Unidades de Pesquisa de que, em 1976, ocorreu a implantação

das coleções de germoplasma em Lages e em Itajaí (Diola, 2004). A partir de então foram criadas outras coleções, como as de macieira e pereira em Caçador, de videira e frutas de caroço em Videira e de culturas anuais em Chapecó.

Em um estudo sobre as coleções de germoplasma das Unidades de Pesquisa da Epagri, constatou-se que 49,5% dos acessos mantidos nestas coleções eram conservados na forma de semente e que condições inadequadas de armazenamento poderiam estar interferindo na conservação dos acessos. Sabe-se que, sob tais

condições, as sementes sofrem degradação fisiológica, o que causa variações na longevidade das sementes entre espécies (Borghetti & Ferreira, 2004).

O desempenho fisiológico das sementes começa a declinar após o estágio de maturação (Chao & Lin, 1996), evidenciado pelo atraso na germinação e emergência, pelo crescimento lento das plântulas, pelo aumento da suscetibilidade aos estresses ambientais e, finalmente, pela diminuição na germinação (Hilhorst, 1998). A conservação também pode ser afetada por condições fisiológicas, físicas e

Aceito para publicação em 8/11/05.

¹Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

²Lic. Ciências Agrícolas, M.Sc., doutorando UFV, Campus UFV, 36570-000 Viçosa, MG, e-mail: valdirdiola@ibest.com.br ou valdirdiola@vicososa.ufv.br.

³Eng. agr., Dr., Epagri, C.P. 502, 88034-901, Florianópolis, SC, fone: (48) 3239-5608, e-mail: vidor@epagri.rct-sc.br.

⁴Eng. agr., Dr., UFSC/CCA, C.P. 476, 88040-900 Florianópolis, SC, fone: (48) 3331-5331, e-mail: mpguerra@cca.ufsc.br. ▶

biológicas das sementes no momento da introdução do material vegetal como acesso. Aspectos intrínsecos da espécie também podem ser diferenciais consideráveis a serem observados quando o objetivo é a longevidade (IPGRI, 1994). Fatores ambientais como altas temperaturas e teor elevado de água nas sementes aumentam as concentrações de O₂ nas células, liberam CO₂ e aceleram o envelhecimento (Sapra et al., 2003).

Enzimas associadas ao processo de peroxidação e a alteração na atividade de enzimas ligadas ao processo respiratório podem contribuir para a diminuição da viabilidade da semente. A membrana da mitocôndria, que é rica em lipídios insaturados e está envolvida diretamente na respiração, pode ser afetada (Wilson & McDonald, 1986). A ativação enzimática promove a síntese metabólica dos compostos e processos respiratórios ligados à germinação que, dependendo do estado fisiológico da semente,

produz um efeito cinético sobre o vigor da plântula e sobre a conversão dos compostos bioquímicos (Cardoso, 2004). Sementes muito debilitadas e enfraquecidas por problemas fisiológicos ou envelhecidas têm a reação inicial de germinação retardada.

Nas coleções de germoplasma em condições ambientais inadequadas é comum a perda de viabilidade fisiológica das sementes. O monitoramento da viabilidade é a ferramenta pela qual se pode avaliar a qualidade das sementes dos acessos (IPGRI, 1994). Quando se observa redução nas taxas de germinação é necessário entender as variáveis associadas e determinar os métodos de avaliação mais adequados (Sapra et al., 2003), visando otimizar as condições de armazenamento.

O presente estudo qualitativo sobre avaliação fisiológica de acessos na forma de sementes e das condições ambientais de armazenamento nas coleções das Unidades de Pesquisa da Epagri

visou estimar a longevidade e avaliar a perda de viabilidade dessas sementes, servindo como modelo paramétrico de monitoramento de acessos em bancos de germoplasma.

Material e métodos

A avaliação fisiológica compreendeu dez acessos para cada espécie (Tabela 1), cujo tempo de armazenagem está referenciado nas abscissas da Figura 1. O ensaio foi composto de duas repetições de cem sementes para avaliar germinação e velocidade de germinação e duas de 50 sementes para avaliar a viabilidade, seguindo os procedimentos de Santana & Ranal (2004). Os testes foram realizados no Laboratório de Sementes do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina – CCA/UFSC –, em Florianópolis, no ano de 2004.

Teste de viabilidade – baseando-se nas regras para análise de sementes descritas por Rocha (1976) e regulamentadas pelo

Tabela 1. *Espécies, condições ambientais de armazenagem e acessos amostrados⁽¹⁾ nas Unidades de Pesquisa da Epagri*

Chapecó		Ituporanga		Itajaí		Lages		Lages		Lages		Lages	
<i>Phaseolus vulgaris</i>		<i>Allium cepa</i>		<i>Oriza sativa</i>		<i>Paspalum dilatatum</i>		<i>Bromus auleticus</i>		<i>Trifolium repens</i>		<i>Adesmia tristis</i>	
Condição ambiental de armazenagem													
°C	UR%	°C	UR%	°C	UR%	°C	UR%	°C	UR%	°C	UR%	°C	UR%
19 a 20	±40	0 a 2	-	10	±40	10	±40	10	±40	10	±40	10	±40
Cfe/Cepaf 667		EEIT 005		EEI 9		EEL P 2003		EEL 36		EEL 4256		EEL 342	
Cfe/Cepaf 171		EEIT 16		EEI 17		EEL P 1244		BRA 442		EEL 4316		EEL 1342	
Cfe/Cepaf 125		EEIT 38		EEI 14		EEL P 3210		EEL 134		EEL 4221		EEL 16	
Cfe/Cepaf 287		EEIT 56		EEI 8		EEL P 3198		EEL 21		EEL 4847		EEL 39	
Cfe/Cepaf 19		EEIT 21		EEI 5		EEL P 2886		EEL 13		EEL 4708		EEL 1376	
Cfe/Cepaf 8		EEIT 76		EEI 23		EEL P 4240		EEL 2348		EEL 4463		EEL 1503	
Cfe/Cepaf 78		EEIT 46		EEA 406		EEL P 3199		EEL 2340		EEL 4104		EEL 237	
Cfe/Cepaf 190		EEIT 84		EEI 91		EEL P 3203		EEL 2367		EEL 4243		EEL 1517	
Cfe/Cepaf 5		EEIT 63		EEI 128		EEL P 2554		EEL 2617		EEL Fr		EEL 178	
Cfe/Cepaf 72		EEIT 47		Sem identif.		Sem identif.		Sem identif.		Sem identif.		Sem identif.	
Representatividade amostrada		9,5%		0,13%		6,3%		19,2%		12,9%		45,5%	

⁽¹⁾Acessos coletados segundo a disponibilidade de material vegetal para amostra e com informações de código e data de introdução.

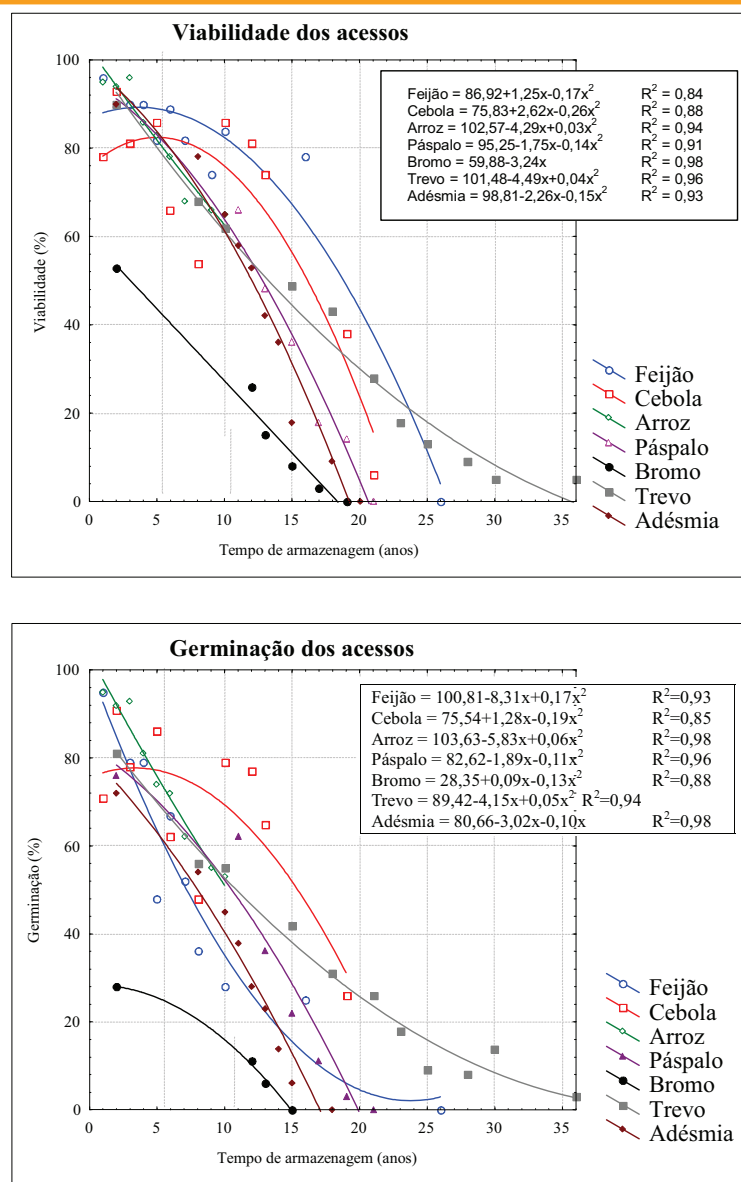


Figura 1. Parâmetros fisiológicos para viabilidade e germinação das sementes armazenadas nas coleções de germoplasma das Unidades de Pesquisa da Epagri

Ministério da Agricultura e Reforma Agrária (Brasil, 1992), foram adotados os seguintes procedimentos:

- Desinfestação das sementes em hipoclorito de sódio a 1% por 15 minutos.

- Para o preparo e limpeza das sementes: em *B. auleticus* e *O. sativa* procedeu-se à retirada da lema. Para *A. tristis*, procedeu-se à escarificação com lixa nº 180. As

demais sementes não tiveram qualquer preparo especial.

- Imersão das sementes em água e incubação por 24 horas em câmara de germinação a 25°C e UR de 98%.

- Excisão do eixo embrionário das sementes de *P. vulgaris* e *T. repens*; secção transversal em sementes de *O. sativa*, *P. dilatatum* e *B. auleticus* e secção longitudinal para sementes de *A. cepa* e *A. tristis*, com posterior imersão em solução

de TTC (2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio) a 1% por 30min a 1 hora para *P. vulgaris* e *T. repens*; por 2 a 3 horas para *O. sativa*, *P. dilatatum* e *B. auleticus* e por 1 hora e 30min a 2 horas para *A. cepa* e *A. tristis*.

- Com auxílio de um estereomicroscópio (10x), verificou-se a ocorrência das sementes que apresentaram tecidos com reações avermelhadas. A alteração na coloração reflete a atividade das enzimas desidrogenases envolvidas na atividade respiratória, que liberam íons H^+ devido à reação dos tecidos vivos com o sal (2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio), formando uma substância de cor vermelha, estável e não difusível, denominada trifênilformazan. Se o sal de tetrazólio é reduzido, formando o composto vermelho, houve atividade respiratória nas mitocôndrias, significando que há viabilidade celular e do tecido. Os tecidos não viáveis não reagem e, conseqüentemente, não são coloridos (Menezes, 2005).

Testes de germinação e índice de velocidade de germinação – os testes foram realizados conforme recomendações de Rocha (1976) e Brasil (1992), acondicionando as sementes em papel germtest, incubando-as em câmara de germinação a 25°C ($\pm 1^\circ C$) (Laboriau, 1983) e UR de 95% a 98% (Brasil, 1992), com avaliação da velocidade de germinação, registrando o número de plantas germinadas em 2, 4, 7, 11, 16, 22 e 29 dias. Consideraram-se germinadas as sementes com radícula maior que 2,5mm de comprimento. O índice de velocidade de germinação foi obtido pela seguinte fórmula: $IVG = G1/N1+G2/N2+...+Gx/Nx$; em que: G1, G2...Gx representam o número de plântulas normais computadas nas contagens sucessivas e N1, N2...Nx, o número de dias a partir da implantação do teste.

Análise dos dados – a adoção das espécies como tratamento deve-se à avaliação dos fatores ambientais na intenção de analisar quais as espécies nas Unidades de Pesquisa que poderiam apresentar menor ou maior longevidade. Para avaliar a degradação fisiológica das sementes, foi feita a Análise de Regressão Polinomial visando▶

estimar a velocidade de resposta bioquímica e fisiológica produzida, testando a aderência pelo F teste ($P < 0,05$).

Resultados e discussão

Os testes de viabilidade, germinação e velocidade de germinação com espécies oriundas de diferentes Unidades de Pesquisa da Epagri são apresentados na Tabela 2.

As médias demonstram uma separação em dois grupos. Um grupo distinto foi detectado nas coleções que estão localizadas em Lages e outro, localizado nas demais Unidades pesquisadas. Observou-se que as espécies reagiram irregularmente ao tempo de armazenagem produzindo efeitos heterogêneos entre elas e revelando comportamento espécie-independente. As maiores taxas de viabilidade e germinação foram observadas em *P. vulgaris*, *A. cepa* e *O. sativa*, enquanto que para o índice de velocidade de germinação (IVG) foram observadas em *P. vulgaris* e *O. sativa*.

As curvas de regressão indicaram para todos os tratamentos um coeficiente de regressão (R^2) para a viabilidade entre 0,84 e 0,98 e para a germinação, entre 0,85 a 0,98 (Figura 1), o que indica baixa dispersão de dados, demonstrando que a análise pode servir de modelo para monitoramento de germoplasma. Também houve diferenças significativas entre os tratamentos (espécies) e entre locais de armazenagem. Pelos dados obtidos, pode-se determinar que nas condições encontradas as coleções apresentam os períodos críticos indicados pela Figura 1 e Tabela 3, estimando o período de regeneração a partir de 50% da germinação avaliada na introdução dos acessos nas coleções.

O monitoramento do germoplasma vegetal através do teste de tetrazólio demonstra por reações bioquímicas o potencial de germinação, enquanto o teste de germinação avalia a resposta fisiológica das sementes, e, portanto, biologicamente, ambos são aplicáveis nas condições locais encontradas nas coleções avaliadas. A metodologia aplicada correlaciona as respostas bioquímicas à viabi-

lidade da germinação, mas a utilização dos testes para avaliar a qualidade dos acessos dos bancos de germoplasma deve fundamentar-se nos propósitos da análise das sementes, como afirmam os pesquisadores do Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos – IPGRI (1994).

Observou-se que em todas as espécies amostradas a degradação fisiológica foi dependente do tempo de armazenagem, com repercussões relevantes à conservação (Figura 1 e Tabelas 2 e 3). O tempo de armazenagem exerce influência

sobre a degradação fisiológica das sementes entre espécies distintas (Sapra et al., 2003). A regeneração é um processo de manutenção dos acessos de uma coleção e, portanto, deve ser realizada antes da exaustão da energia disponível nas reservas, que afeta a síntese e produção de ATP e a energia metabólica (Labouriau, 1983). Sementes que sofreram hidrólise generalizada dos compostos bioquímicos apresentam pouca viabilidade (Akhter et al., 1992).

Os métodos de avaliação se prestam ao monitoramento dos

Tabela 2. Viabilidade, germinação e índice de velocidade de germinação das sementes armazenadas nas coleções de germoplasma das Unidades de Pesquisa da Epagri⁽¹⁾

Espécie amostrada	Viabilidade	Germinação	Índice de velocidade de germinação
(%).....		
<i>Phaseolus vulgaris</i>	84,31	62,36	33,58
<i>Allium cepa</i>	73,77	68,32	16,90
<i>Oriza sativa</i>	81,22	75,22	29,56
<i>Paspalum dilatatum</i> ⁽¹⁾	32,86	21,04	3,14
<i>Bromus auleticus</i> ⁽¹⁾	21,03	15,60	0,84
<i>Trifolium repens</i> ⁽¹⁾	38,56	34,20	9,76
<i>Adesmia tristis</i> ⁽¹⁾	44,91	28,34	3,51

⁽¹⁾Espécies da coleção armazenada em Lages, SC.

Tabela 3. Períodos críticos determinantes de regeneração e perda de germinação de sementes da coleção de germoplasma das Unidades de Pesquisa da Epagri⁽¹⁾

Espécie	Período de regeneração estimado	Perda total da germinação estimada
(Anos).....	
<i>Phaseolus vulgaris</i>	9 a 10	23
<i>Allium cepa</i>	16 a 17	25
<i>Oriza sativa</i>	10 a 11	23
<i>Paspalum dilatatum</i>	10 a 11	21
<i>Bromus auleticus</i>	7 a 8	20
<i>Trifolium repens</i>	13 a 14	34
<i>Adesmia tristis</i>	8 a 9	17

⁽¹⁾Dados estimados a partir dos testes de avaliação de germinação (Diola, 2004) e na revisão bibliográfica.

acessos, cujas sementes, nestas condições, apresentam longevidade estimada entre 18 e 32 anos e degradação fisiológica dependente da espécie e do ambiente de armazenagem. Os resultados obtidos no presente trabalho indicaram que parte significativa dos acessos que estão sob a forma de sementes nas coleções das Unidades de Pesquisa da Epagri deveria ser regenerada. Nas coleções de *P. vulgaris*, *A. cepa* e *O. sativa*, o sistema de armazenagem e/ou regeneração vem propiciando boas condições de estado fisiológico das sementes. Quanto às sementes das coleções amostradas da EEL, a idade média dos acessos é superior a 12 anos e as condições de armazenagem neste local nem sempre são constantes e adequadas. Considerando estas particularidades, muitos acessos podem estar com sua viabilidade afetada, com exceção de sementes de *T. repens* (Figura 1 e Tabelas 2 e 3). Nesta Unidade de Pesquisa ocorreu um fenômeno distinto das demais. Parte significativa das sementes das coleções foi coletada de espécies não domesticadas, cujas sementes eram heterogêneas. Já nas outras Unidades as espécies amostradas eram provenientes de cultivos, sendo provável que suas sementes tenham sido coletadas em estado fisiológico adequado. Além disso, as condições ambientais de armazenagem na EEL em relação às outras Unidades de Pesquisa estariam menos adequadas para a conservação em longo prazo. Em Lages foi possível distinguir dois grupos: leguminosas e gramíneas. Bewley & Black (1994) afirmam que as sementes de gramíneas contêm reservas localizadas no endosperma, enquanto leguminosas possuem essas reservas armazenadas nos cotilédones, tendo a síntese e a degradação rotas específicas e distintas. É possível, portanto, que as condições de armazenagem na EEL possam ter produzido um efeito negativo mais acentuado sobre gramíneas e, com isso, a longevidade destas sementes foi abreviada.

Sementes recém-colhidas ou bem conservadas possuem os compostos fosfolipídicos das membranas mais ativos (Borghetti & Ferreira, 2004),

sendo a ativação do ATP e dos metabólitos enzimáticos rapidamente assimilados ou translocados após a indução da germinação (Chao & Lin, 1996), fato verificado para acessos de feijão, arroz e cebola. A Figura 2 mostra o comportamento fisiológico da evolução da degradação destes compostos nas plântulas cultivadas em areia após a obtenção dos dados do índice de vigor. A diminuição da capacidade de crescimento pode ter sido promovida pelo esgotamento das substâncias de reservas destas sementes, conforme sugerem Chao & Lin (1996).

Conclusões

A degradação fisiológica correlaciona-se com o tempo de armazenagem e exerce influência sobre a germinação das sementes, o que repercute sobre a longevidade e conservação do germoplasma.

Espécies ou grupos taxonômicos distintos não se correlacionam quanto à longevidade e às condições ambientais. Para a conservação em longo prazo o ambiente de armazenagem deve ser adequado à espécie ou ao seu grupo taxonômico.

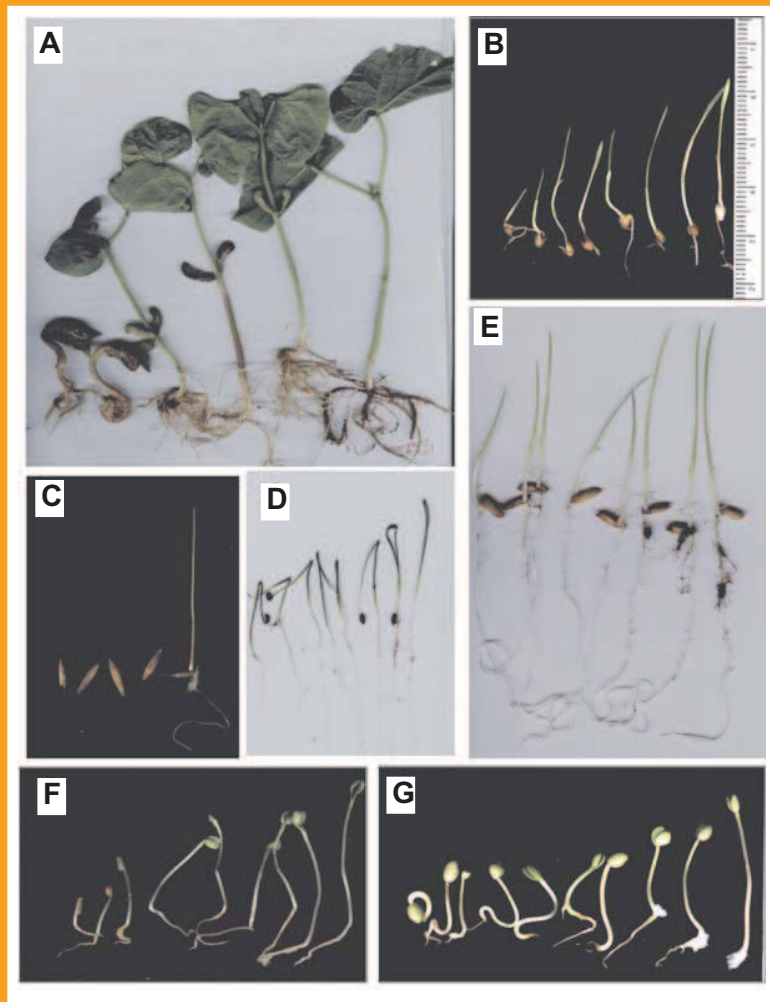


Figura 2. Plântulas resultantes do teste de germinação, dispostas na seqüência cronológica da introdução nas coleções; na esquerda, sementes exauridas e na direita, sementes mais bem nutridas. As sementes podem estar apresentando comprometimento das reservas nutritivas. (A) feijão (*Phaseolus vulgaris*); (B) páspalo (*Paspalum dilatatum*); (C) bromo (*Bromus auleticus*); (D) cebola (*Allium cepa*); (E) arroz (*Oriza sativa*); (F) trevo-branco (*Trifolium repens*) e (G) adésmia (*Adesmia tristis*)

Literatura citada

1. AKHTER, A.F.; KABIR, G.; MANNAN, M.A.; SHAHEE, N.N. Aging effect of wheat and barley seeds upon germination mitotic index and chromosomal damage. *Journal of Islamic Academy of Sciences*, Bangladesh, v.5, n.1, p.44-48, 1992.
2. BEWLEY, J.D.; BLACK, M. *Seeds: Physiology of development and germination*. 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
3. BORGHETTI, F.; FERREIRA, A.G. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. *Germinação; do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.208-222.
4. BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regras para análise de sementes*. Brasília: SNDA/DNDV/CLV, 1992. 365p.
5. CARDOSO, V.J.M. Germinação. In: KERBAUY, G.B. *Fisiologia vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.386-408.
6. CHAO, C.C.; LIN, T.P. Content of adenylate nucleotides and energy charge in the early stage of germination of orthodox and recalcitrant seeds. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, China, v.37, p.229-237, 1996.
7. DIOLA, V. *Os Recursos Genéticos Vegetais das coleções de germoplasma da Epagri*. 2005. 110p. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.
8. HILHORST, H.W.M. The regulation of secondary dormancy: the membrane hypothesis revisited. *Seed Science Research*, v.8, p.77-90, 1998.
9. IPGRI. *Normas para bancos de germoplasma*. Itália: IPGRI/FAO, 1994. p.15.
10. LABOURIAU, L.G. *A germinação das sementes*. Washington: Organização dos Estados Americanos, 1983. p.170. (Monografias científicas).
11. MENEZES, N.L. de. *Testes rápidos para a determinação da qualidade das sementes*. Disponível em: <<http://www.ufsm.br>>. Acesso em 24 nov. 2005.
12. ROCHA, F.F. *Manual do teste de tetrazólio em sementes*. Brasília Ministério da Agricultura; Agiplan, 1976. 85p.
13. SANTANA, D.G.; RANAL, A.M. Análise estatística. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. *Germinação; do básico ao aplicado*. Artmed, Porto Alegre: Artmed, 2004. p.197-207.
14. SAPRA, R.L.; NARAIN, P.; BHAT, S.R. et al. Prediction of seed longevity in the genebank: how reliable are the estimates? *Current Science*, New Delhi, v.85, n.11, 2003.
15. WILSON, D.O.; MCDONALD, M.B. The lipid peroxidation model of seed ageing. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.14, n.2, p.269-300, 1986. ■



Cepa

Centro de Estudos de Safras e Mercados

**A criação do Centro, há um ano,
permitiu a continuidade e o aperfeiçoamento do
planejamento setorial, de estudos socioeconômicos
e do monitoramento de safras e mercados, em
benefício do meio rural e pesqueiro de Santa Catarina**