

A AMPLITUDE AMOSTRAL INTERFERE NAS MEDIDAS DE GERMINAÇÃO DE *Bowdichia virgilioides* Kunth?

DOES THE SAMPLE RANGE INTERFERE IN THE GERMINATION MEASUREMENTS OF *Bowdichia virgilioides* Kunth?

João Paulo Ribeiro-Oliveira¹ Marli A. Ranal² Denise Garcia de Santana³

RESUMO

É comum encontrar na literatura trabalhos sobre germinação de sementes nativas de uma mesma espécie com tamanhos de amostra diferenciados. No entanto, não se sabe quais são as consequências disso para os resultados obtidos. Assim, objetivou-se estudar o comportamento das medidas de germinação frente à variação do número de sementes que compõe a amostra para *Bowdichia virgilioides*. O experimento foi conduzido em câmara de germinação, sob luz branca fluorescente contínua, a $26,2 \pm 2,5$ °C. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 3 (três tamanhos de amostra x três lotes), com número de repetições fixo e igual a quatro. A semeadura foi realizada em caixas tipo *gerbox*, contendo 25, 50 ou 100 sementes, perfazendo 100, 200 ou 400 sementes por amostra. A germinabilidade, tempo inicial, médio e final, velocidade média e *VE* (*IVG*), coeficiente de variação do tempo, incerteza e sincronia da germinação foram avaliados, sendo consideradas germinadas as sementes com protrusão de embrião. Gráficos de frequência relativa também foram construídos. Dentre estas medidas, as mais frágeis ao incremento do tamanho da amostra foram o *VE* e a incerteza. O *VE*, além de ser influenciado pelo tamanho da amostra, também foi influenciado pelo contrabalançar entre germinabilidade e velocidade média, demonstrando ser uma medida imprópria para mensurar velocidade de germinação quando a capacidade germinativa dos lotes for diferente. As medidas de tempo, uniformidade, sincronia, velocidade média e a germinabilidade não tiveram seus resultados afetados pelos diferentes tamanhos da amostra. A germinabilidade, entretanto, mostrou-se a medida mais estável do processo germinativo, não sendo influenciada pelo tamanho da amostra, mesmo quando analisada por meio de lotes com qualidades muito discrepantes.

Palavras-chave: teste de germinação; qualidade fisiológica; sucupira-preta; tamanho ótimo de amostra.

ABSTRACT

It is usual to find papers about seed germination of native species using different sample sizes. However, the consequences of these procedures on the results are unknown. This study measured the germination process of *Bowdichia virgilioides* based on different seed sample sizes. The assay was conducted in a germination chamber under continuous fluorescent white lamps and 26.2 ± 2.5 °C. The design was completely randomized, as a 3 x 3 factorial (three sample sizes x three seed lots), with four replications per treatment. The sowing was done in *gerbox*, each one containing 25 seeds, making up 100, 200 and 400 seeds per sample analyzed. Germinability, time (first, average and final), speed (mean germination rate and Maguire's index – *VE* or *IVG*), coefficient of variation of the germination time, uncertainty and synchrony of the germination process were evaluated. Those seeds with embryo protrusion were considered germinated. Germination relative frequency graphics were also made. Among these measurements, the most fragile to

1 Engenheiro Agrônomo, Msc., Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Umuarama, Bloco 2E, Caixa Posta 593, CEP 38408-100, Uberlândia (MG), Brasil. oliveira.jpr@hotmail.com

2 Bióloga, Dr^a., Professora Titular do Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Umuarama, Bloco 2D, Caixa Posta 593, CEP 38408-100, Uberlândia (MG), Brasil. ranal@ufu.br

3 Engenheira Agrônoma, Dr^a., Professora Adjunto IV do Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Umuarama, Bloco 4C, Caixa Posta 593, CEP 38408-100, Uberlândia (MG), Brasil. dgsantana@umuaroma.ufu.br

Recebido para publicação em 07/10/2011 e aceito em 01/08/2012

size sample were VE and the uncertainty. VE was also influenced by the relation between germinability and mean germination rate, demonstrating its instability to measure the speed of the germination process when the lots have different germination capacity. Results of time measurements, uniformity, mean germination rate and germinability were not affected by seed sample size. Germinability, however, was the most stable germination measurement, and was not affected by sample size, even when analyzed by seed lots with very discrepant quality.

Keywords: seed testing; physiological quality; sucupira-preta; optimum sample size.

INTRODUÇÃO

O setor sementeiro mundial foi impulsionado pelo pioneirismo de Friedrich Nobbe que, em 1869, publicou o “Estatuto relativo ao controle de sementes agrícolas” e fundou o primeiro laboratório para análise da germinação de sementes (STEINER e KRUSE, 2006). Além disto, foi Nobbe o responsável pela publicação, em 1876, do “*Handbook on Seed Testing*”, o primeiro manual de análise de sementes (NOVEMBRE, 2001; STEINER e KRUSE, 2006; STEINER et al., 2009). Este livro propiciou a padronização dos métodos laboratoriais para estimar a qualidade fisiológica de sementes, o que permitiu a solidificação do setor sementeiro (STEINER e KRUSE, 2006; STEINER et al., 2009), culminando com a fundação da *Association of Official Seed Analysts* (AOSA), em 1908 (AOSA, 2011), e da *International Seed Testing Association* (ISTA), em 1924 (ISTA, 2011).

No Brasil, as primeiras normas para análise da germinação de sementes foram publicadas em 1956, sendo aperfeiçoadas a partir das regras propostas pela AOSA e ISTA (NOVEMBRE, 2001). Em 1967, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento publicou as primeiras Regras para Análise de Sementes (RAS), revisadas em 1992 (NOVEMBRE, 2001) e, mais recentemente, em 2009 (BRASIL, 2009). Entretanto, em todas essas edições, o número de informações sobre teste de germinação para sementes florestais nativas é ínfimo (WIELEWICKI et al., 2006). Isto se deve, principalmente, à dificuldade de padronização dos métodos laboratoriais, decorrente de problemas bióticos e abióticos da produção das sementes, e ao grande número de espécies, muitas sem apelo financeiro.

Devido, principalmente, à problemática produtiva de várias espécies florestais nativas, o primeiro desafio para a padronização dos métodos laboratoriais é estabelecer o número mínimo de sementes a ser utilizado como amostra para a

realização dos testes de germinação (FIGLIOLIA et al., 1993; WIELEWICKI et al., 2006). Isto fica evidente no trabalho intitulado “*Studies on the seed biology of 100 native species of trees in a seasonal moist tropical forest, Panama, Central America*” (SAUTU et al., 2006). Os autores deste trabalho, ao estudarem aspectos biológicos da germinação de sementes de 100 espécies florestais da América Central, utilizaram unidades experimentais que variaram entre 20 e 100 sementes, amplitude justificada pela escassez de diásporos de algumas espécies. Mas esta amplitude amostral afeta a robustez dos resultados obtidos? Existe alguma medida de germinação que apresenta maior fragilidade a essas circunstâncias, ou seja, o resultado dessas medidas é afetado pelo tamanho de amostra? Esses questionamentos se tornam ainda mais pertinentes quando se pensa em comercialização dessas sementes.

O incremento da demanda de sementes florestais nativas deve-se, sobretudo, aos programas de conservação e à necessidade da maior variabilidade genética das mudas como forma de evitar a erosão genética vegetal (FAO, 2010). A popularização dos fitoterápicos, fármacos naturais ou seminais, também contribui para essa verticalização. Desse modo, o estudo do processo germinativo de espécies como *Bowdichia virgilioides* se faz necessário. Esta Fabaceae, encontrada em diversos tipos de vegetação da Mata Atlântica, Caatinga, Pantanal e Cerrado, possui comportamento de espécie colonizadora e pode ser utilizada na recuperação de áreas degradadas (CARVALHO, 2006), além de apresentar grande potencial fitoterápico (SILVA JÚNIOR et al., 2009; THOMAZZI et al., 2010).

As sementes de *Bowdichia virgilioides* são ortodoxas (CARVALHO et al., 2006) e dormentes por impermeabilidade tegumentar (CARVALHO, 2006; ZAIDAN e CARREIRA, 2008), sendo necessários tratamentos pré-germinativos para facilitar e acelerar sua germinação. Para este fim, o método mais frequentemente utilizado é a escarificação química com ácido sulfúrico (ANDRADE

et al., 1997; SAMPAIO et al., 2001; SMIDERLE e SOUSA, 2003; ALBUQUERQUE et al., 2009), com grande eficácia para superação de dormência de sementes recém-colhidas, com tegumento impermeável. No entanto, a eficácia desse método depende de diversos fatores, como o tempo de exposição ao ácido sulfúrico (ANDRADE et al., 1997; SAMPAIO et al., 2001; SMIDERLE e SOUSA, 2003; ALBUQUERQUE et al., 2009) e a idade das sementes.

Apesar do processo germinativo dessa espécie ser bem estudado, existem divergências quanto ao número de sementes por amostra de trabalho, variando entre 96 (SAMPAIO et al., 2001), 100 (ANDRADE et al., 1997; CARVALHO et al., 2006; ALBUQUERQUE et al., 2009) e 200 (SMIDERLE e SOUZA, 2003). Diante disso, testaram-se diferentes tamanhos de amostra para a realização do teste de germinação de sementes de *Bowdichia virgilioides*, com o intuito de se avaliar o comportamento das medidas de germinação frente a esta variação.

MATERIAL E MÉTODO

Local de coleta, beneficiamento das sementes e classificação dos lotes

Nos ensaios foram utilizadas sementes oriundas de árvores do município de Uberlândia, Minas Gerais, coletadas em 2009, e de lotes comerciais do Instituto Florestal de São Paulo (Tabela 1). Para a realização das coletas, foram registradas as coordenadas geográficas dos indivíduos, respeitando-se a distância mínima entre matrizes de 20 m (Tabela 1). Frutos depositados sobre o solo e aqueles ainda presos à matriz foram coletados.

Logo após a coleta, os frutos foram mantidos em bancadas do Laboratório de Sementes Florestais (LASEF) da Universidade Federal de Uberlândia, secando ao ar. A extração das sementes do fruto tipo legume samaróide foi feita manualmente, sem auxílio de qualquer instrumento. A triagem foi realizada separando-se as sementes chochas, danificadas e imaturas. O lote comercial, adquirido do Instituto Florestal, foi processado segundo rotina de trabalhos daquele setor.

Para se obter os lotes com qualidades distintas, foram realizados testes prévios com finalidade inferencial, em que lotes de sementes potenciais para o estudo foram tratados de acordo com os métodos pré-germinativos propostos pelos vários autores que trabalharam com sementes desta espécie (ANDRADE et al., 1997; SAMPAIO et al., 2001; SMIDERLE e SOUSA, 2003; ALBUQUERQUE et al., 2009). Os lotes foram separados pela coloração do tegumento (Tabela 1) e, para os testes prévios, foram utilizadas duas repetições com 25 sementes, semeadas em caixas *gerbox* contendo vermiculita expandida de textura fina, umedecida a 70% da capacidade de campo e mantidas em câmara de germinação (Seedburo Equipment Company model 2000).

Testes de germinação das sementes

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal da Universidade Federal de Uberlândia, em câmara de germinação (Seedburo Equipment Company, modelo MPG – 2000), sob luz branca fluorescente contínua ($12,29 \pm 5,84 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR) e temperatura média de $26,2 \pm 2,5$ °C.

TABELA 1: Coordenadas geográficas das matrizes de *Bowdichia virgilioides*, origem do lote comercial e caracterização de cada lote estudado. UTM: Universal Transverse Mercator. IF: Instituto Florestal.

TABLE 1: Geographical coordinates of *Bowdichia virgilioides* matrices, origin of the commercial lots and characterization of each lot studied. UTM: Universal Transverse Mercator. IF: Instituto Florestal.

Lotes	Procedência		Caracterização do lote		
	Coordenadas geográficas (UTM)	Lote Comercial	1	2	3
1	-	IF (173/2010)	Sementes com tegumento laranja intenso	Sementes com tegumento vermelho intenso e pontuações pretas	Sementes com tegumento amarelado
2	788032-7903308	-			
3	788774-7902456	-			

A semeadura foi realizada em caixas do tipo *gerbox*, sobre vermiculita expandida de textura superfina, com volume de expansão de 0,1 m³. Para a implantação dos experimentos, esse substrato foi umedecido com água destilada até atingir 70% da capacidade de campo. Utilizou-se como método de superação de dormência de sementes o picote lateral na porção mediana da semente, seguido de imersão em água corrente por 24 h. As avaliações de germinação foram realizadas diariamente, no mesmo horário, e o critério de germinação foi a protrusão de qualquer parte do embrião.

Delineamento experimental

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 3 (três lotes x três tamanhos de amostra), com número de repetições fixo e igual a quatro. Em função do fator tamanho de amostra, a parcela experimental foi constituída por uma, duas ou quatro caixas *gerbox*. Independentemente do tamanho da parcela, cada caixa *gerbox* continha 25 sementes. Assim, o número de sementes por parcela experimental foi de 25, 50 e 100, totalizando amostras que continham, respectivamente, 100, 200 e 400 sementes. Para a interação, a hipótese nula foi de que o efeito da qualidade do lote independe do tamanho da amostra para a robustez das medidas de germinação de sementes de *Bowdichia virgilioides*. Quando não houve interação entre os fatores se realizou o estudo dos efeitos principais.

Características avaliadas

As características avaliadas foram a germinabilidade (G); tempo médio de germinação (\bar{t}), calculado pela expressão proposta por Labouriau (1983); coeficiente de variação do tempo (CV_t), proposto por Ranal e Santana (2006), que mede o grau de dispersão da germinação ao redor do tempo médio, sendo calculado a partir do tempo médio e do desvio padrão do tempo; velocidade média (\bar{v}), calculada segundo Labouriau (1970); velocidade de germinação (VE ou IVG), proposta por Maguire (1962), cuja expressão matemática associa número de sementes germinadas com o tempo; incerteza (I), proposta por Labouriau e Valadares (1976) para analisar a incerteza associada à distribuição da frequência relativa de germinação; e a sincronia (Z) do processo de germinação, calculada segundo Ranal e Santana (2006). A frequência relativa de germi-

nação foi calculada segundo Labouriau e Valadares (1976), por meio da expressão matemática:

$$f_i = \frac{n_i}{\sum_{i=1}^k n_i}$$

Onde f_i : frequência relativa de germinação; n_i : número de sementes germinadas no dia i e k ; e, k : último dia de germinação. O teor de água foi avaliado em base seca, a partir de oito repetições de 50 sementes. A temperatura de secagem foi de 70 °C e as avaliações foram realizadas até massa constante.

Análise estatística das características

Para a análise estatística foram utilizados os testes de Shapiro-Wilk e de Levene para a normalidade dos resíduos da ANOVA e homogeneidade entre as variâncias, respectivamente, ambos a 0,01 de significância. Atendidas essas pressuposições, aplicou-se aos dados a ANOVA e, para a comparação de médias, o teste de Tukey a 0,05 de significância. Para dados não normais, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido de Dunn para combinações binárias a 0,05 de significância. No entanto, para algumas características, optou-se por uma análise não conservadora. Em função da robustez do teste F a pequenas violações da normalidade dos resíduos (SCHEFFÉ, 1959), e pelo acesso restrito a testes não paramétricos para modelos em esquema fatorial, optou-se pela análise paramétrica de dados que, quando transformados, não satisfaziam as pressuposições, mas reduziam o valor do F de Levene e/ou elevavam o valor de W do teste de Shapiro-Wilk.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de água das sementes de *Bowdichia virgilioides* dos diferentes lotes analisados foram baixos ($9,41 \leq \% \text{ teor de água} \leq 10,41\%$) e similares aos obtidos por outros autores (ANDRADE et al., 1997; CARVALHO et al., 2006; ALBUQUERQUE et al., 2009).

Não houve interação entre o tamanho da amostra e a qualidade do lote de sementes para as medidas de tempo final, germinabilidade, velocidade média de germinação, coeficiente de variação do tempo e sincronia (Tabelas 2 - 4). Isto mostra que estas medidas são robustas à flutuação do tamanho da amostra utilizada no teste de germinação de sementes dessa espécie. Não foi possível testar a ocorrência ou não da interação entre os fatores analisados

para as medidas de tempo inicial e médio, pois seus resultados não atenderam às pressuposições estatísticas para a realização da ANOVA, mesmo quando transformados (Tabela 2). Para a velocidade de Maguire e incerteza, foi constatada interação entre os fatores envolvidos, indicando que essas características são afetadas pelo número de sementes que compõe a amostra (Tabelas 3 e 4).

Deve-se ressaltar que os resultados de germinabilidade, velocidade de Maguire (Tabela 3), incerteza e sincronia (Tabela 4) não atenderam às pressuposições estatísticas para a realização da ANOVA, mesmo quando transformados. No entanto, a transformação acarretou em aumento do valor de *W* de Shapiro-Wilk e/ou redução do valor de *F* de Levene. Como consequência, para estas características, foi

realizada ANOVA, ainda que as pressuposições tenham sido violadas.

O tempo inicial da germinação das sementes dos diferentes lotes estudados por meio de diferentes tamanhos de amostra teve amplitude entre 2,75 e 7,75 dias (Tabela 2). Sementes oriundas do lote 1 encerraram o processo de germinação precocemente em relação às do lote 3, embora as do lote 2 tenham apresentado comportamento similar às de ambos os lotes (Tabela 2). Amostras contendo 100, 200 ou 400 sementes apresentaram comportamento similar quanto à última germinação ($15,58 \leq t_f \leq 17,50$ dias), demonstrando que o número de sementes que compõe a amostra não interfere na robustez dos resultados desta medida. O tempo médio de germinação das sementes dos di-

TABELA 2: Medidas de tempo da germinação de sementes de *Bowdichia virgilioides* pertencentes a diferentes lotes, mensuradas a partir de três tamanhos de amostra (T.A.).

TABLE 2: Time measurements of the germination process of *Bowdichia virgilioides* seeds belonging to different lots, measured from three sample sizes (T.A.).

Característica	T.A.	Lote			Média
		1	2	3	
t_0 (dia)	100	6,25	7,75	4,00	6,00 a
	200	4,25	5,50	4,50	4,75 a
	400	4,50	4,25	2,75	3,83 a
	Média	5,00 A	5,83 A	3,75 A	
		$W(P) = 0,991(0,990)$ $^1F(P) = 1,139(0,362)$	$^3H(P) = 15,584(0,049)$		
t_f (dia)	100	13,75	13,00	20,00	15,58 a
	200	10,25	17,75	19,75	15,92 a
	400	15,00	17,00	20,50	17,50 a
	Média	13,00 A	15,92 AB	20,08 B	
		$W(P) = 0,991(0,990)$ $^1F(P) = 1,139(0,362)$ $CV(\%) = 27,38$ DMS T.A. = DMS Lote = 4,53	$^2F(P)$ lote = 7,604(0,002) $^2F(P)$ T.A. = 0,629(0,541) $^2F(P)$ T.A.*lote = 0,958(0,446)		
\bar{t} (dia)	100	9,27	10,36	7,75	9,13 a
	200	6,81	9,42	7,06	7,76 a
	400	7,72	9,22	6,88	7,94 a
	Média	7,93 A	9,67 A	7,23 A	
		$W(P) = 0,902(0,004)$ $^1F(P) = 2,796(0,011)$	$H(P) = 15,773(0,046)$		

Em que: t_0 = tempo para a primeira germinação; t_f = tempo para a última germinação; \bar{t} = tempo médio de germinação; *W* = estatística do teste de Shapiro-Wilk. 1F = estatística do teste de Levene; 2F = estatística do teste de Snedecor; 3H = estatística do teste de Kruskal-Wallis; *P* = probabilidade. Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, dentro de cada característica, diferem pelo teste de Tukey ou Dunn a 0,05 de probabilidade.

TABELA 3: Germinabilidade e velocidade da germinação de sementes de *Bowdichia virgilioides* pertencentes a diferentes lotes, mensuradas a partir de três tamanhos de amostra (T.A.).TABLE 3: Germinability and speed of the germination process of *Bowdichia virgilioides* seeds belonging to different lots measured from three sample sizes (T.A.).

Característica	T.A	Lote			Média
		1	2	3	
G (%)	100	19,00	12,00	70,00	33,67 a
	200	7,50	9,50	73,50	30,17 a
	400	11,50	9,75	73,00	31,42 a
	Média	12,67 B	10,42 B	72,17 A	
	$W(P) = 0,885(0,001)$		${}^2F(P)$ lote = 183,477(0,000)		
	${}^1F(P) = 2,958(0,007)$		${}^2F(P)$ T.A. = 0,727(0,493)		
	$CV(\%) = 17,97$		${}^2F(P)$ T.A.*lote = 0,845(0,509)		
	DMS T.A. = DMS Lotes = 5,85				
VE (plântulas dia ⁻¹)	100	1,01 Ba	0,38 Ba	2,60 Ac	1,33
	200	0,64 Ba	0,68 Ba	4,75 Ab	2,02
	400	1,78 Ba	1,30 Ba	9,56 Aa	4,21
	Média	1,14	0,78	5,64	
	$W(P) = 0,968(0,384)$		${}^2F(P)$ lote = 174,843(0,004)		
	${}^1F(P) = 3,680(0,001)$		${}^2F(P)$ T.A. = 54,141(0,000)		
	$CV(\%) = 28,13$		${}^2F(P)$ T.A.*lote = 25,789(0,000)		
	DMS T.A. = DMS Lotes = 1,24				
\bar{v} (dia ⁻¹)	100	0,1100	0,1050	0,1325	0,1158 a
	200	0,1500	0,1125	0,1425	0,1350 a
	400	0,1300	0,1100	0,1450	0,1283 a
	Média	0,1300 AB	0,1092 B	0,1400 A	
	$W(P) = 0,984(0,868)$		${}^2F(P)$ lote = 6,251(0,006)		
	${}^1F(P) = 1,185(0,331)$		${}^2F(P)$ T.A. = 2,392(0,111)		
	$CV(\%) = 17,24$		${}^2F(P)$ T.A.*lote = 0,734(0,577)		
	DMS T.A. = DMS Lotes = 0,0221				

Em que: G = germinabilidade; VE = velocidade de Maguire; \bar{v} = velocidade média de germinação; W = estatística do teste de Shapiro-Wilk; 1F = estatística do teste de Levene; 2F = estatística do teste de Snedecor; P = probabilidade. Estatística de G e VE calculada com dados transformados; G para arcosseno $(x/100)^{1/2}$ e VE para $x^{1/2}$. Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, dentro de cada característica, diferem pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade.

versos lotes, em amostras de tamanho variado, teve amplitude entre 6,81 e 10,36 dias (Tabela 2).

Sementes do lote 3 apresentaram maior germinabilidade e velocidade média de germinação que as dos demais lotes (Tabela 3). Independentemente do lote de origem, o número de sementes que compunha a amostra não afetou a robustez dos resultados obtidos para essas características. Sementes do lote 3 apresentaram maior velocidade de Maguire que as dos demais lotes, sobretudo quando analisada por amostras contendo 400 sementes (Tabela 3). Para este lote, em especial, essa característica foi

afetada pelo incremento do número de sementes, apresentando maiores valores com o aumento do tamanho da amostra (Tabela 3). Além disso, pode-se observar que o VE é afetado pelo contrabalancear entre germinabilidade e velocidade média. Isto pode ser observado quando se comparam os lotes 1 e 3. O lote 3, com maior germinabilidade, foi equivalente em velocidade média (\bar{v}) ao lote 1, com menor germinabilidade. Entretanto, quando analisados pela velocidade de Maguire, o lote 3 apresentou velocidade de germinação bem superior ao lote 1. Isto mostra que a alta germinabilidade elevou o valor de

TABELA 4: Uniformidade, incerteza e sincronia da germinação de sementes de *Bowdichia virgilioides* pertencentes a diferentes lotes, mensuradas a partir de três tamanhos de amostra (T.A.).

TABLE 4: Uniformity, uncertainty and synchrony of the germination process of *Bowdichia virgilioides* seeds belonging to different lots, measured from three sample sizes (T.A.).

Característica	T.A.	Lote			Média
		1	2	3	
CV_t (%)	100	30,74	25,68	53,08	36,50 a
	200	41,31	53,23	51,35	48,63 a
	400	46,27	44,60	48,58	46,48 a
	Média	39,44 A	41,17 A	51,01 A	
		$W(P) = 0,972(0,494)$	$^2F(P)$ lote = 1,156(0,330)		
		$^1F(P) = 2,796(0,011)$	$^2F(P)$ T.A. = 1,244(0,304)		
		CV (%) = 45,81	$^2F(P)$ T.A.*lote = 0,697(0,600)		
	DMS T.A. = DMS Lotes = 20,35				
I (bit)	100	1,4700 ABa	0,9800 Aa	2,7775 Ba	1,7425
	200	1,6450 Aa	1,6975 Aab	6,2025 Bb	3,1817
	400	2,3150 Aa	2,6975 Ab	12,6925 Bc	5,9017
	Média	1,8100	1,7917	7,2242	
		$W(P) = 0,929(0,024)$	$^2F(P)$ lote = 5,663(0,000)		
		$^1F(P) = 6,121(0,000)$	$^2F(P)$ T.A. = 5,881(0,000)		
		CV (%) = 23,03	$^2F(P)$ T.A.*lote = 1,045(0,019)		
	DMS T.A. = DMS Lotes = 0,6806				
Z	100	0,1500	0,0250	0,1675	0,1142 a
	200	0,0675	0,0775	0,1250	0,0900 a
	400	0,1125	0,0725	0,1375	0,1075 a
	Média	0,1100 A	0,0583 A	0,1433 A	
		$W(P) = 0,714(0,000)$	$^2F(P)$ lote = 3,273(0,053)		
		$^1F(P) = 7,580(0,000)$	$^2F(P)$ T.A. = 1,752(0,192)		
		CV (%) = 27,99	$^2F(P)$ T.A.*lote = 1,325(0,286)		
	DMS T.A. = DMS Lotes = 0,2739				

Em que: CV_t = coeficiente de variação do tempo; I = incerteza; Z = sincronia; W = estatística do teste de Shapiro-Wilk; 1F = estatística do teste de Levene; 2F = estatística do teste de Snedecor; P = probabilidade. Estatística de I e Z calculada com dados transformados, I para $x^{1/2}$ e Z para $(x+1)^{1/2}$. Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, dentro de cada característica, diferem pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade.

VE das sementes do lote 3, o que não ocorreu para as do lote 1 que, apesar de tão rápidas para germinar quanto as do lote 3 (\bar{v}), tiveram baixa germinabilidade. Esta fragilidade do VE foi apontada anteriormente por Brown e Mayer (1988) e Ranal e Santana (2006), apesar destes autores não terem comprovado isso numericamente.

A germinação das sementes de *Bowdichia virgilioides* mostrou-se desuniforme, independentemente do lote ou do tamanho de amostra estudados ($36,50 \leq CV_t \leq 51,01\%$) (Tabela 4). As sementes pertencentes ao lote 3 apresentaram maior incerteza

de germinação, sobretudo quando avaliadas por amostras contendo mais de 100 sementes (Tabela 4). Neste contexto, essa característica foi afetada pelo incremento do número de sementes, apresentando maiores valores com o aumento do tamanho da amostra. Além de desuniforme e incerto, o processo de germinação dessas sementes, independentemente do lote ou do tamanho da amostra utilizado para estudá-lo, foi pouco síncrono ($0,0583 \leq Z \leq 0,1433$) (Tabela 4).

Utilizando-se diferentes tamanhos de amostra, foi possível demonstrar numericamente que, de

fato, quanto mais sementes são postas a germinar (maior tamanho de amostra), maiores são as possibilidades de haver espalhamento da germinação, desde que as sementes estejam viáveis e, principalmente, se forem sementes com algum tipo de dormência. Exemplo disto pode ser observado para o lote 3, que apresentou maior germinabilidade e maior incerteza. Para este lote, o incremento do número de sementes por amostra repercutiu em aumento da incerteza de germinação. Contrário a isto, para os lotes 1 e 2, com menor germinabilidade e menor incerteza, os resultados desta medida não sofreram com o incremento do tamanho da amostra. Certamente as poucas sementes viáveis desses lotes estavam com a mesma qualidade fisiológica, o que propiciou baixos valores de incerteza.

Sementes pertencentes ao lote 3 apresentaram menores frequências relativas de germinação e maior número de picos germinativos que as dos demais lotes, ao passo que as maiores frequências e a menor quantidade de picos germinativos foram observadas para sementes do lote 1 (Figura 1). As sementes do lote 3 necessitaram de

maior quantidade de dias para encerrar o processo germinativo que as dos lotes 1 e 2, o que contribuiu para o maior espalhamento da germinação das sementes desse lote (Figura 1). A amplitude temporal do processo de germinação das sementes dos diferentes lotes estudados por diferentes tamanhos de amostras, que demonstra o tempo entre a primeira e última semente germinada, foi de 12 a 29 dias.

Embora a literatura recomende a escarificação química com ácido sulfúrico para a superação de dormência tegumentar dessa espécie (ANDRADE et al., 1997; SAMPAIO et al., 2001; SMIDERLE e SOUSA, 2003; ALBUQUERQUE et al., 2009), sementes com tegumento laranja intenso ou vermelho com pontuações pretas não suportaram, nos pré-testes, esse tipo de escarificação, indicando que a coloração do tegumento das sementes desta espécie está associada à integridade tegumentar, conforme já haviam mencionado Albuquerque et al. (2009). Uma possibilidade para o insucesso da escarificação química nestas sementes é a diferença em intensidade de dormência condicionada à coloração do tegumento. Esta hipótese é sustentada pelos gráficos de

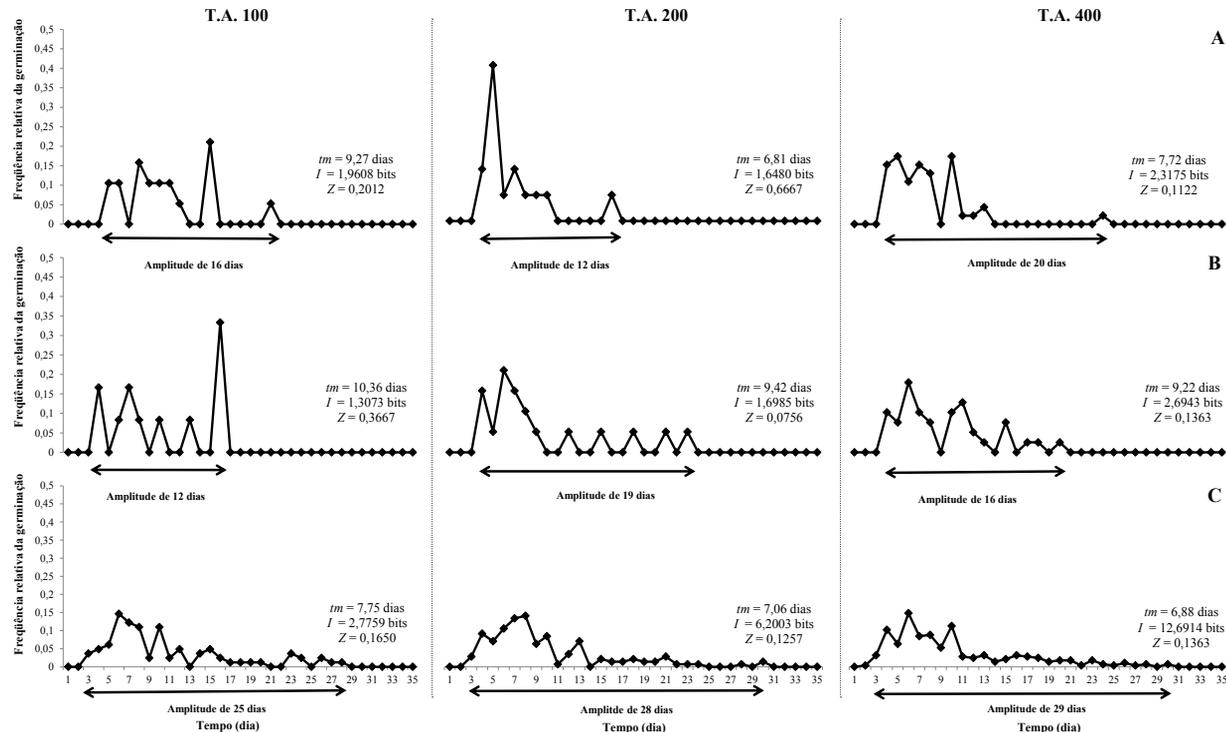


FIGURA 1: Frequência relativa da germinação de sementes de *Bowdichia virgilioides* de diferentes lotes ao longo do tempo, quando estudadas por meio de três tamanhos de amostra (T.A.). A: lote 1; B: lote 2; C: lote 3. t_m : tempo médio de germinação; I : incerteza; Z : sincronia.

FIGURE 1: Relative frequency of the germination process of *Bowdichia virgilioides* seeds from different lots and three sample size (T.A.). A: Lot 1; B: Lot 2; C: Lot 3. t_m : Mean germination time; I : uncertainty; Z : synchrony.

frequência relativa de germinação, em que sementes do lote 3, com tegumento amarelo, mesmo após tratamento pré-germinativo (picote lateral seguido de imersão em água corrente por 24 h), apresentaram germinação mais espalhada no tempo que as dos demais lotes, mostrando que possuem dormência mais intensa que as demais. Neste sentido, é interessante ressaltar ainda que sementes com menor germinabilidade ($10,42 \leq G \leq 12,67\%$), dos lotes 1 e 2, apresentaram germinação mais uniforme, síncrona e menos incerta, em relação àquelas com maior germinabilidade (lote 3; 72,17%), o que é explicado pela similaridade fisiológica das sementes desses lotes.

A baixa eficácia do método químico, observada nos pré-testes realizados, aliada à presença de um hilo grande e proeminente e a conhecida presença de substâncias fenólicas (fenóis, taninos, antocianinas e flavonoides), esteroides, triterpenoides, saponinas, resinas, alcaloides e ácido clorogênico nas sementes desta espécie (CARVALHO, 2006; RODRIGUES et al., 2009) nortearam a utilização de um método alternativo de superação de dormência; o picote lateral, seguido de imersão em água corrente por 24 h. A ruptura da barreira física do tegumento, em combinação com a lavagem desses compostos permitiram a obtenção de 72,17% de germinação para sementes com tegumento amarelo. Estes resultados mostraram a eficácia do método alternativo, uma vez que a superação de dormência por meio da ação do ácido sulfúrico proporciona germinabilidades variáveis, entre 2,1 e 91,8% (ANDRADE et al., 1997; SAMPAIO et al., 2001; SMIDERLE e SOUZA, 2003; ALBUQUERQUE e GUIMARÃES, 2007; ALBUQUERQUE et al., 2009), sendo que esta eficácia dependente da coloração do tegumento e provavelmente da idade dessas sementes. A partir desses resultados, algumas hipóteses sobre o tipo de dormência das sementes desta espécie podem ser levantadas. A primeira é a presença de dormência tegumentar por impermeabilidade do tegumento, mas se esta fosse a única dormência presente, o picote por si só teria deixado os lotes 1 e 2 com alta germinabilidade. Isto evidencia a presença de inibidores no tegumento (dormência química) ou no embrião (dormência fisiológica). Talvez por isso, sementes com tegumento amarelo, pertencentes ao lote 3, com maior potencial germinativo, atingiram 72,17%, mesmo tendo potencial para atingir maior germinabilidade. Neste sentido, essas sementes teoricamente necessitam de maior tempo de lavagem do que as 24 horas adotadas nes-

te trabalho, para garantir germinabilidade próxima de 90% (resultado do pré-teste realizado). Ressalta-se que os conceitos de tipos de dormência adotados seguem o sistema de classificação de Nikolaeva (BASKIN e BASKIN, 1998).

A discrepância entre os resultados referentes à germinabilidade dessas sementes provavelmente está associada à falta de padronização na formação de lotes, ao esforço amostral utilizado na coleta das sementes, especialmente quanto ao número de indivíduos coletados (ANDRADE et al., 1997; SAMPAIO et al., 2001; SMIDERLE e SOUZA, 2003; ALBUQUERQUE e GUIMARÃES, 2007; ALBUQUERQUE et al., 2009) e, sobretudo, ao uso do ácido sulfúrico (diferentes concentrações, nem sempre mencionadas pelos autores e tempo de exposição variado), mas não à quantidade de sementes utilizadas por tratamento para mensurá-la. Isto é ratificado pela grande estabilidade desta medida frente à variação do tamanho da amostra, uma vez que, mesmo sendo analisada por meio de lotes com qualidades extremas, a germinabilidade não sofreu interferência do tamanho da amostra.

Os resultados das medidas de tempo (tempo inicial, médio e final) também não foram afetados pelo tamanho da amostra e, com exceção do tempo médio, nem mesmo conseguiram discriminar os lotes em grupos. Isto evidencia que a germinação de sementes de *Bowdichia virgilioides* com dormência tegumentar superada ocorre de maneira cadenciada, como se seguisse um relógio biológico, com início e fim programados, independentemente da qualidade e da idade do lote que se trabalha.

Contrário à germinabilidade e às medidas de tempo, a velocidade de Maguire e a incerteza mostraram-se medidas vulneráveis ao tamanho diferenciado da amostra. Em geral, para ambas as medidas, o incremento do tamanho da amostra em número de sementes acarretou em aumento de seus valores. Assim, quanto mais sementes foram postas a germinar, maior foi a velocidade de Maguire e a incerteza do processo germinativo. No caso da velocidade de Maguire, isto pode estar associado ao fato desta ser uma medida mista, em que quanto maior a germinabilidade e/ou a velocidade média, maior será seu valor (SANTANA e RANAL, 2004; RANAL e SANTANA, 2006).

Diversos autores, ao estudarem a velocidade do processo germinativo de sementes de *Bowdichia virgilioides* por meio dessa medida (*VE* ou *IVE*), notaram que as maiores velocidades estavam associadas às maiores germinabilidades (SAMPALIO et

al., 2001; ALBUQUERQUE et al., 2009). Como germinabilidade e velocidade média se contrabalançam nesta medida (SANTANA e RANAL, 2004; RANAL e SANTANA, 2006), lotes com maior *VE* nem sempre têm a maior velocidade de germinação, o que explica os resultados apresentados pelos lotes 1 e 3.

A instabilidade da incerteza para mensurar a sincronia da germinação de sementes desta espécie, provavelmente relaciona-se com a origem desta medida. Esta característica é calculada por meio das mesmas expressões matemáticas utilizadas para se obter o índice de Shannon (LABOURIAU e VALADARES, 1976; SANTANA e RANAL, 2004; RANAL e SANTANA, 2006), derivado da teoria informacional (LABOURIAU e VALADARES, 1976) que mensura a diversidade de materiais vivos (MELO, 2008). Apesar de ter sido muito utilizado por ecólogos para determinar a biodiversidade, diversos autores ressaltam que os resultados deste índice podem ser influenciados pelo tamanho de amostra, ainda que de modo sutil (URAMOTO et al., 2005; MELO, 2008; SILVA et al., 2008). O presente trabalho quantifica esta interferência.

Diante disto, a sincronia de germinação de sementes de *Bowdichia virgilioides* deve ser preferencialmente mensurada por *Z* e a uniformidade do processo pelo coeficiente de variação do tempo, que se mostraram características estáveis, independentemente do número de sementes que compunham a amostra e da qualidade do lote. Os resultados destas características também demonstram que, independentemente da germinabilidade do lote, o processo de germinação de sementes desta espécie é pouco síncrono e desuniforme no tempo. Isto, associado à dispersão anemocórica das sementes desta espécie (COSTA et al., 2004; STEFANELLO et al., 2009), explica o fato de plantas de *Bowdichia virgilioides* serem encontradas em várias regiões da América do Sul (COSTA et al., 2004; CARVALHO, 2006; STEFANELLO et al., 2009; RAMÍREZ e TRAVESET, 2010), uma vez que a espécie está guarnecida de dispersão temporal da germinação das sementes e dispersão espacial dos frutos.

O processo pouco síncrono e desuniforme da germinação dessas sementes pode ser confirmado pelas frequências relativas, que possibilitam verificar a amplitude do processo germinativo (período entre a primeira e a última germinação), a sobreposição de eventos e o quão espalhado no tempo é este processo, conforme apontado por Santana e Ranal (2004) e Ranal et al. (2009). Estas

características são ecológica, fisiológica e tecnologicamente importantes, pois permitem visualizar o processo germinativo de sementes e, a partir disto, o padrão da germinação de uma espécie (RANAL et al., 2009). Esses resultados mostram que, mesmo com tratamento pré-germinativo, a germinação de sementes de *Bowdichia virgilioides* mostrou-se um evento polimodal, com vários picos e baixa frequência o que, segundo Ranal et al. (2009), é típico de sementes com dormência. Entretanto, a amplitude do processo germinativo foi relativamente pequena, demonstrando que o tratamento pré-germinativo foi eficiente para superar a barreira germinativa, mas possivelmente não muda o padrão da germinação das sementes desta espécie, ou seja, diminui o tempo necessário, mas não retira suas peculiaridades de germinação. Isto é ratificado quando se observa os lotes separadamente, em que, apesar de haver pequenas diferenciações, o tamanho da amostra não modifica o padrão da frequência germinativa do lote.

CONCLUSÃO

Germinabilidade, tempo inicial, médio e final, coeficiente de variação do tempo e sincronia são características do processo de germinação de sementes de *Bowdichia virgilioides* robustas à variação do tamanho da amostra, ao passo que a velocidade de Maguire e a incerteza não são robustas à variação do número de sementes que compõe a amostra, sendo, portanto, pouco confiáveis para mensurar, respectivamente, velocidade e sincronia do processo de germinação de sementes desta espécie.

AGRADECIMENTOS

À doutoranda Maristela Rosália Anastácio pelas contribuições técnicas. À CAPES pela bolsa fornecida ao primeiro autor. À FAPEMIG pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, K. S. et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas durante a embebição de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p.012-019, 2009.
- ALBUQUERQUE, K. S.; GUIMARÃES, R. M. Comportamento fisiológico de sementes de

- sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) sob diferentes temperaturas e condições de luz. **Cerne**, Lavras, v. 13, n. 1, p. 64-70, 2007.
- ANDRADE, A. C. S. et al. Quebra de dormência de sementes de sucupira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 5, p. 465-469, 1997.
- AOSA. **Association of Official Seed Analysts Inc.**: home. Disponível em <www.aosaseed.com>. Acessado em: 07 de julho de 2011.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination**. San Diego: Academic Press, 1998. 666 p.
- BRASIL. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p.
- BROWN, R. F.; MAYER, D. G. Representing cumulative germination: A critical analysis of single-value germination indices. **Annals of Botany**, Oxford, v. 61, p. 117-125, 1988.
- CARVALHO, L. R. et al. Classificação de sementes florestais quanto ao comportamento no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 15-25, 2006.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 627 p. (Coleção Espécies Arbóreas Brasileiras, v.2).
- COSTA, I. R. et al. Flora e aspectos auto-ecológicos de um enclave de cerrado nachapada do Araripe, Nordeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 18, n. 4, p. 759-770, 2004.
- FAO. Food and Agriculture Organization. **Global Forest Resources Assessment**. Roma: FAO-Forest Department, 2010. 12 p.
- FIGLIOLIA, M. B. et al. Análise de sementes. In: AGUIAR, I. B. de; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. **Sementes Florestais Tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993.
- ISTA. **International Seed Testing Association – ISTA**: home. Disponível em <www.seedtest.org/en/home>. Acessado em: 07 de julho de 2011.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da organização dos Estados Americanos, Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 1983. 174 p.
- LABOURIAU, L. G. On the physiology of seed germination in *Vicia graminea* Sm. I. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 42, p. 235-262, 1970.
- LABOURIAU, L. G.; VALADARES, M. E. B. On the germination of seeds of *Calotropis procera* (Ait.) Ait. f. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 48, p. 263-284, 1976.
- MAGUIRE, J. D. Speed germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madson, v. 2, p. 176-177, 1962.
- MELO, A. S. O que ganhamos ‘confundindo’ riqueza de espécies e equabilidade em um índice de diversidade? **Biota Neotropical**, Campinas, v. 8, n. 3, p. 21-27, 2008.
- NOVEMBRE, A. D. L. C. Avaliação da qualidade de sementes. **Seed News**, Pelotas, v. 5, n. 3. p. 24-28, 2001.
- RAMÍREZ, N; TRAVESET, A. Predispersal seed-predation by insects in the Venezuelan Central Plain: Overall patterns and traits that influence its biology and taxonomic groups. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 12, p. 193-209, 2010.
- RANAL, M. A. et al. Are there germination patterns for cerrado species?. In: DEL-CLARO, K.; OLIVEIRA, P. S.; RICO-GRAY, V.; BARBOSA, A. A. A. (Org.). **Encyclopedia of life support systems, tropical biology and natural resources**. Oxford: Encyclopedia of Life Support Systems (Eolss) Publishers, 2009. v. 4, p.1575-1671.
- RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. How and why to measure the germination process? **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 1-11, 2006.
- RODRIGUES, M. O. et al. Volatile constituents and antibacterial activity from seeds of *Bowdichia virgilioides* Kunt. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 21, n. 3, p. 286-288, 2009.
- SAMPAIO, L. S. V. et al. Ácido sulfúrico na superação da dormência de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* H.B.K. - Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 184-190, 2001.
- SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. **Análise da germinação: um enfoque estatístico**. Brasília: Ed. da UnB, 2004. 248 p.
- SAUTU, A. et al. Studies on the biology of 100 native species of trees in a seasonal moist tropical forest, Panama, Central America. Maryland, **Forest Ecology Management**, Amsterdam, v. 234, p. 245-263, 2006.
- SCHEFFÉ, H. **The analysis of variance**. New York: Willey, 1959. 477 p.
- SILVA JÚNIOR, I. F. et al. Antimicrobial screening of some medicinal plants from Mato Grosso Cerrado. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 242-248, 2009.

- SILVA, D. D. et al. Diversidade populacional de *Colletotrichum sublineolum* em seis localidades no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 2, p. 149-155, 2008.
- SMIDERLE, O. J.; SOUSA, R. C. P. Dormência em sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth - Fabaceae - Papilionidae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 48-52, 2003.
- STEFANELLO, D. et al. Síndromes de dispersão de sementes em três trechos de vegetação ciliar (nascente, meio e foz) ao longo do Rio Pindaíba, MT. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1051-1061, 2009.
- STEINER, A. M. et al. Method validation in the early days – testing forest tree seeds in 1928-1934. **Seed Testing International: Rules Development**, Zurich, n. 138, p. 33-36, 2009.
- STEINER, A. M.; KRUSE, M. History of seed testing. In: **Seed Testing International** (ISTA), Zurich, n.132, p.19-21, 2006.
- THOMAZZI, S. M. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Bowdichia virgilioides*(sucupira). **Journal of Ethnopharmacology**, Konstanz, v. 127, p. 451-456, 2010.
- URAMOTO, K. et al. Análise quantitativa e distribuição de populações de espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) no Campus Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 33-39, 2005.
- WIELEWICKI, A. P. et al. Proposta de padrões de germinação e teor de água para sementes de algumas espécies florestais presentes na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 191-197, 2006.
- ZAIDAN, L. B. P.; CARREIRA, R. C. Seed germination in Cerrado species. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v. 20, n. 3, p. 167-181, 2008.