



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

FERNANDO AUGUSTO SALES RIBEIRO

**ENSAIOS SOBRE A AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO E  
VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Phlox* EM SAL DE  
TETRAZÓLIO**

**LAVRAS-MG**

**2020**



**FERNANDO AUGUSTO SALES RIBEIRO**

**ENSAIOS SOBRE A AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO E  
VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Phlox* EM SAL DE  
TETRAZÓLIO**

Trabalho de conclusão de curso apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para obtenção do título de Bacharel.

**Orientação**

Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa  
Pesquisadora Embrapa Café

**Coorientação**

Dra. Stefânia Vilas Boas Coelho  
Pós-Doutoranda UFLA

Ph.D. Pablo Jourdan  
Professor Ohio State University

## AGRADECIMENTOS

Uma conquista nunca se completa sozinha. Por isso, se faz necessário reconhecer todos aqueles que estiveram presentes durante toda minha caminhada acadêmica, direta ou indiretamente.

De um modo especial, gostaria de agradecer a orientação da pesquisadora Sttela, por todos seus ensinamentos, apoio e paciência.

A minha coorientadora Stefânia, por sempre estar disposta a ajudar e estar sempre presente.

Aos meus pais Geraldo e Stela por todo carinho e apoio nos momentos mais difíceis.

A minha irmã Débora por toda a paciência e orientação.

A minha namorada Júlia pelo suporte e compreensão durante a caminhada.

Aos meus avós Haroldo de Paula Ribeiro (*in memorian*), Hélia Maria Ribeiro (*in memorian*), Lucinda Sales Pereira (*in memorian*) e José Joaquim Pereira (*in memorian*), por todo amor e carinho durante o tempo em vida presente em minha caminhada.

A todos meus familiares de um modo geral, por todo companheirismo e apoio.

Aos meus amigos de graduação Gabi, Tiago, Marlon, Rafael, Marco, Matheus, Eric, João Marcos, Marcos, Andrei, Felipe, Luiz Henrique e Celso, por todos os momentos compartilhados e amizade durante todo esse tempo.

Ao professor Pablo Jourdan, pela orientação durante meu intercâmbio.

A OPGC, por me oferecer toda estrutura de pesquisa na Ohio State University e todos os colegas que lá estiveram, Susan, Eric e Bryce.

A equipe de pesquisa da Sttela, Pedro, Laura, Júlia, Tatiana, Stefânia, Madeleine, Nathália, Palloma, Ana Luiza e Marina, por toda a parceria durante meus dias de laboratório;

A Universidade Federal de Lavras, por me dar a oportunidade de me tornar um profissional.

E à Deus, por sempre me iluminar e me amparar desde o início.

## ABSTRACT

Having a quality of a seed lot is very important for germplasm center. The germination test for *Phlox* seeds is time consuming and has many problems with fungi. Finding alternative methods to evaluate the quality of *Phlox* seeds would be very important to make the work more dynamic. This paper presents the results from a study that shows the difference between tetrazolium and germination tests in *Phlox* seeds harvested in different years. Seven species of *Phlox* were investigated: *Phlox drummondii*, *Phlox pilosa*, *Phlox carolina*, *Phlox divaricata*, *Phlox amplifolia*, *Phlox maculata* and *Phlox glaberrima*. Forty-eight seeds were blotted for 24 hours at a controlled temperature of 25°C. Then the seed was longitudinally cut and dipped in a 0.2% tetrazolium solution. The seeds were placed at the temperature of 30°C for four hours. The evaluation was made through three dimensions: germinable seeds, potentially germinable and non-germinable, according to the presented coloration. The germination test was conducted on agar plates in four replications of 50 seeds. A linear correlation test was applied to the results and showed that the germination and tetrazolium test has a correlation between them. However, other factors affect the results of the germination test, the main one being the fungal attack, which was very present mainly in the lots that the tetrazolium was low; however, fungi were still seen in some seed lots where the tetrazolium test indicated a good amount of viable seeds. Therefore, the germination test can't be ruled out yet, so the tetrazolium test should be done as a preliminary test, and when not getting very consistent results, the germination test should be done later. The results showed a very wide variation in the different harvest years for various species of *Phlox*. This means that the harvest location, weather conditions or the plant's own condition in a given year may result in lots with different seed quality.

**Key-words:** Ornamental seed, physiological quality, germination test.

## RESUMO

A qualidade de um lote de sementes em bancos de germoplasma é muito importante, uma vez que a manutenção da viabilidade das espécies armazenadas é um desafio. Testes como germinação e tetrazólio são essenciais para avaliar o comportamento fisiológico dos lotes ao longo do tempo. No caso da espécie *Phlox*, o teste de germinação é lento e apresenta problemas com patógenos. Padronizar métodos alternativos para avaliar a qualidade de sementes desta espécie é muito importante para tornar o trabalho mais dinâmico. Assim, objetivou-se com este trabalho comparar os resultados dos testes de germinação e de tetrazólio, em sementes de *Phlox* colhidas em diferentes anos. Sete espécies de *Phlox* foram investigadas: *Phlox drummondii*, *Phlox pilosa*, *Phlox carolina*, *Phlox divaricata*, *Phlox amplifolia*, *Phlox maculata* e *Phlox glaberrima*. Para a realização do teste de tetrazólio, 48 sementes de cada espécie foram embebidas em água e mantidas em temperatura controlada de 25 °C, durante 24 horas, para realização do pré-condicionamento. Em seguida, as sementes foram cortadas longitudinalmente e mergulhadas em solução de tetrazólio a 0,2%, na temperatura de 30 °C por quatro horas para coloração. A avaliação foi realizada de acordo com três categorias: sementes germináveis, potencialmente germináveis e não germináveis, de acordo com o local e a intensidade da coloração apresentada. O teste de germinação foi realizado em placas de ágar com quatro repetições de 50 sementes, submetidas a temperatura de 15°C por no mínimo quatro semanas. De acordo com o teste de correlação linear, os resultados do teste de germinação e do teste de tetrazólio possuem uma correlação positiva, inferindo que existe uma boa relação entre os dois métodos. Foi observado que fatores como o ataque fúngico, podem afetar os resultados do teste de germinação, o que ocorreu, principalmente, nos lotes que apresentaram viabilidade baixa no teste de tetrazólio. No entanto, a presença de fungos também foi observada em alguns lotes de sementes onde o teste de tetrazólio indicou alta viabilidade das sementes. Concluiu-se que o teste de germinação ainda não pode ser descartado e o teste de tetrazólio deve ser realizado como um teste preliminar, para ser comparado aos resultados da germinação. Houve uma ampla variação nos diferentes anos de colheita para as várias espécies de *Phlox* estudadas, indicando que o local da colheita, as condições climáticas ou as condições da planta em um determinado ano podem influenciar na qualidade fisiológica das sementes.

Palavras-chave: Sementes ornamentais, Qualidade fisiológica, Teste de germinação

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	8
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	8
<b>2.1. O gênero Phlox</b> .....	8
<b>2.1.1. Classificação do gênero</b> .....	9
<b>2.1.2 <i>Phlox drummondii</i></b> .....	10
<b>2.1.3. Embrião, semente e propagação</b> .....	11
<b>2.2 Teste de Tetrazólio</b> .....	11
<b>2.3. Teste de germinação</b> .....	12
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	13
<b>3.1. Teste de tetrazólio</b> .....	13
<b>3.1.2 Pré-condicionamento</b> .....	14
<b>3.1.3 Preparação e coloração</b> .....	14
<b>3.1.4. Avaliação do teste do tetrazólio</b> .....	15
<b>3.2. Teste de germinação</b> .....	15
<b>3.2.1. Avaliação do teste de germinação</b> .....	16
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	16
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	22
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	23

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Phlox*, pertence à família Polemoniaceae e é nativo dos Estados Unidos, onde mais de 60 espécies crescem em diversos habitats, da tundra alpina às florestas até pradarias abertas. A maioria das 60 espécies é perene herbácea, no entanto, existem três espécies anuais. As espécies de *Phlox* são usadas principalmente para fins de paisagem, assim como incluídas em projetos de restauração e habitat nativo (WHERRY, 1955).

O Centro de Germoplasma de Plantas Ornamentais (OPGC), localizado na Ohio State University (OH, USA), conserva uma coleção de mais de 200 acessos de *Phlox*, tanto em clones quanto em sementes. Muitas das espécies perenes do leste dos EUA são capazes de produzir quantidades variáveis de sementes para fins de conservação, mas foram registradas variações significativas na quantidade e, principalmente, na qualidade fisiológica das sementes. A germinação variável, lenta e esporádica das sementes dificultou a avaliação precisa da qualidade dos diferentes acessos, sendo que essas limitações levantam preocupações sobre a longevidade potencial das sementes no armazenamento.

Informações sobre a qualidade de um lote de sementes são críticas para os centros de germoplasma. O teste de tetrazólio é um teste rápido (24 horas) (ISTA, 2004), mas requer interpretação e validação por testes de germinação correlativos. A germinação de sementes *Phlox* pode ser muito lenta (3-4 meses ou até 2 anos) e problemas secundários, como o alto grau de crescimento de fungos influenciam nos resultados. Os resultados no teste de tetrazólio verifica-se a quantidade de tecido com potencial para atividade metabólica presente na semente, indicativo de um bom potencial germinativo, entretanto, não determina com precisão se as sementes iram germinar e formar plântulas normais ou anormais. O teste de tetrazólio é pouco utilizado para as sementes do gênero *Phlox*, portanto, há poucas informações sobre como interpretar variações nos padrões de coloração e sua importância na germinação e no desenvolvimento normal de plântulas.

Deste modo, é essencial verificar a avaliação da viabilidade das sementes armazenadas nos bancos de germoplasma pelo teste de tetrazólio e correlacionar os resultados com o teste de germinação padrão. Diante do exposto, o objetivo neste trabalho foi comparar a avaliação da viabilidade em diferentes anos de colheita e lotes de sementes do gênero *Phlox* pelos testes de germinação e teste de tetrazólio.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. O gênero *Phlox*

*Phlox* é um gênero da família Polimoneaceae, nativa do sul dos Estados Unidos com mais de 60 espécies registradas, das mais variadas cores e formatos. São usadas principalmente para fins paisagísticos, mas também são utilizadas para restauração de florestas e habitats nativos. As espécies, em sua maioria, são perenes, sendo apenas três delas anuais. (WHERRY, 1955). Entre as espécies anuais, destaca-se a *Phlox drummondii*, mais conhecida



como “annual garden phlox” utilizada para fins comerciais por suas características botânicas e morfológicas (CHRISTMANN, 1990).

As folhas de *Phlox* são opostas e variam de relativamente grandes e em forma de espada nas espécies herbáceas altas a pequenas e semelhantes a agulhas na *Phlox subulata*. As folhas maiores são as da espécie *P. paniculata* (Paniculatae). Nessas (*P. paniculata*), as folhas têm 170 mm de comprimento e 80 mm de largura. No grupo *P. glaberrima* (Ovatae de Wherry), as folhas são relativamente menores e, exceto em *P. ovata*, relativamente mais estreitas. As formas variam de amplamente elípticas em *P. ovata* e *P. pulchra* a estreitamente lanceoladas ou mesmo lineares em algumas formas de *P. carolina* e *P. glaberrima*. As folhas tendem a ficar mais espessas e muitas vezes brilhantes (PRIMORSE PATH, 2005).

Em contraste com a grande diversidade de estrutura vegetativa no gênero, a estrutura floral em *Phlox* varia relativamente pouco. A flor tem cinco pétalas unidas por pelo menos metade do seu comprimento em um tubo estreito. O néctar é carregado no fundo do tubo. Os lóbulos das pétalas (o que consideramos pétalas) são “salverform” (isto é, como uma placa plana) e variam em largura. A cor da corola pode ser roxa, rosa, branca, ocasionalmente vermelha ou amarela. Muitas vezes, há um anel ocular ou linhas de cores contrastantes ao redor da abertura do tubo. Essa coloração provavelmente serve como guia de néctar para os polinizadores (PRIMORSE PATH, 2005).

O estilo estigma pode ser muito curto em relação ao comprimento do tubo ou de comprimento intermediário. Os cinco estames variam em comprimento e estão todos contidos no tubo em espécies de estilo curto ou podem se projetar a partir do tubo em espécies de estilo longo. Lepidópteros parecem ser os principais polinizadores de *Phlox*. Provavelmente, eles são os únicos polinizadores das espécies de estilo curto, que possuem tubos com aberturas tão estreitas que apenas uma probóscide de borboleta ou mariposa pode alcançar o néctar. Em espécies com anteras e estigma apresentados na boca do tubo, as abelhas podem coletar e transferir pólen, mas são incapazes de atingir o néctar; abelhas grandes costumam morder a base do tubo para alcançar o néctar sem serem polinizadores (PRIMORSE PATH, 2005).

### **2.1.1. Classificação do gênero**

Do ponto de vista da horticultura, segundo Wherrys(1955) classificou o gênero *Phlox* considerando o habitat e o hábito de crescimento.

*Alto*: este grupo é constituído por espécies herbáceas relativamente grandes, com cerca de um metro e meio, a maioria encontrada no leste dos Estados Unidos, como as espécies *P. paniculata*, *P. maculata*, *P. pulchra*, *P. ovata*. Essas espécies tendem a voltar à folhagem basal no inverno. Eles são usados como plantas de jardim principalmente em ambientes ensolarados.

*Médio*: estes são médios menores e geralmente são semi-lenhosos na base. O grupo *P. pilosa-divaricata* está incluído, bem como as anuais do Texas, como *P. drummondii*. *P. stolonifera* e *P. adsurgens*, plantas rasteiras das florestas do leste e oeste, respectivamente, podem ser incluídas e também espécies ocidentais como o grupo *P. speciosa* e *P. grayi*. Exceto as espécies anuais, as plantas deste grupo geralmente são cultivadas como parte de jardins de

habitat nativo (bosques ou pradarias). Muitas das espécies menos conhecidas provavelmente são cultivadas quase exclusivamente por jardineiros de rochas.

*Pequeno:* estes são geralmente conhecidos como *Phlox* de musgo. São plantas semi-lenhosas, com folhagem mais ou menos verde em forma de agulha. No leste dos Estados Unidos, existem várias espécies que habitam terrenos arenosos e rochosos; no oeste existem dezenas de espécies em habitats semi-áridos e montanos. No Ártico, há espécies que crescem na tundra. Seleções e híbridos das espécies orientais (*P. subulata* e *P. nivalis*) são comumente usados como plantações paisagísticas, onde é necessária uma cobertura baixa e densa do solo em pleno sol. As espécies ocidentais são muito difíceis de cultivar no leste dos EUA; eles são cultivados por jardineiros de rochas no oeste e na Europa.

### **2.1.2 *Phlox drummondii***

*Phlox drummondii* é uma espécie do gênero *Phlox* e da família Polimoneaceae, nativa do Texas e é amplamente distribuída pelo sudeste dos Estados Unidos, principalmente ao longo de rodovias públicas. É considerada a espécie de *Phlox* mais utilizada comercialmente, principalmente pela característica de ciclo de vida anual (FLORIDATA, 2005). Segundo Kelly (1920), as flores tem uma vasta gama de coloração, do branco ao creme, passando por lilás, rosa, roxo, vermelho e até quase preto.

Os galhos têm folhas afiadas, pontudas, longas e ciliadas, com flores arredondadas. As flores são simples ou duplas, com pétalas levemente perfumadas, planas e em forma de estrela. As flores atingem até 2,5 cm de diâmetro. Ele tolera bem o clima frio, mas requer rega abundante e não gosta de seca, vento e calor (ASAKAWA; ASAKAWA, 2001).

As sementes germinam no inverno até o início da primavera. O crescimento vegetativo é rápido, com flores na primavera e no início do verão. As sementes amadurecem e as plantas-mãe morrem durante o verão, com as sementes perdidas até o inverno chover. (PRIMORSE PATH, 2005?)

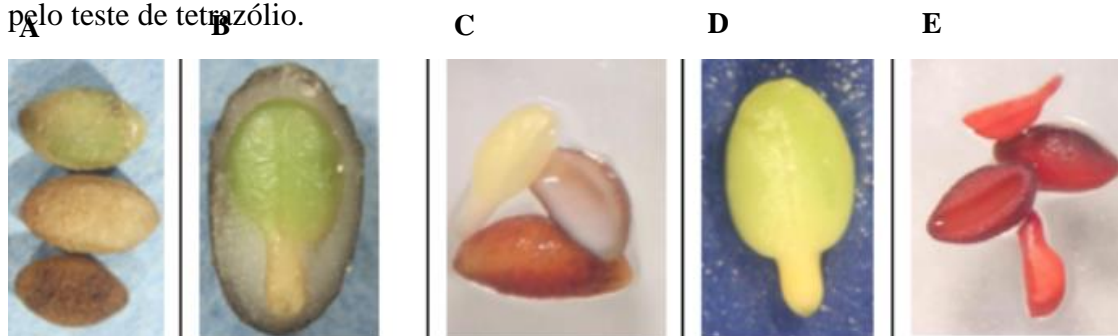
Tem a floração na primavera, que geralmente se estende de abril /maio ao início de julho. As plantas diminuem significativamente à medida que o calor do verão se aproxima, mas podem reviver no outono. No clima mais ameno do verão as plantas podem continuar a florescer (MISSOURI BOTANICAL GARDEN, 2014).

Não há relatos de problemas significativos com pragas e doenças. As plantas são muito suscetíveis ao oídio se em condições úmidas. A podridão da coroa também pode ocorrer caso esteja em solos mal drenados e ácaros também podem causar algum tipo de dano (MISSOURI BOTANICAL GARDEN, 2014).

### 2.1.3. Embrião, semente e propagação

O embrião da semente de *Phlox* está localizado na metade do endosperma e possui uma forma de espátula nas espécies que foram investigadas. O embrião pode ser verde ou esverdeado, mas em sua maioria são incolores (BRAND, 1907;).

Figura 1 – Teste de tetrazólio em sementes do gênero *Phlox*. Legenda: (A): Sementes inteiras de *Phlox*; (B): Estrutura interna; (C): embrião e endosperma; (D): embrião e (E): semente viável pelo teste de tetrazólio.



Fonte: arquivo pessoal

A propagação de *Phlox* é feita principalmente por sementes, e de forma comercial a espécie mais usada é a *Phlox drummondii*. Para a coleta de sementes, as cápsulas do fruto explodem, liberando suas sementes. A coleta das sementes nos frutos deve ocorrer antes da mudança da coloração de verde para uma cor marrom claro, antes da deiscência. Além disso, essas sementes não requerem pré-tratamento. Todavia, a germinação das sementes recém-colhidas podem ser aumentadas pela adição de ácido giberélico (UNIVERSITY OF TEXAS – WILDFLOWER, 2008).

As cápsulas de semente de *Phlox* contêm de uma a várias sementes. Quando a cápsula está madura, ela se divide em três seções, espalhando as sementes. As sementes das espécies que vivem em ambientes de grande altitude e na floresta do leste dos Estados Unidos não vivem muito se armazenadas a seco e precisam passar o verão e o próximo inverno no solo. As sementes das espécies do grupo *P. pilosa* e *P. subulata* de habitat menos úmido toleram algum armazenamento a seco. (PRIMORSE PATH, 2005?).

### 2.2 Teste de Tetrazólio

O teste de tetrazólio é uma alternativa que permite a avaliação da viabilidade de sementes dormentes, recalcitrantes e aquelas que germinam devagar durante os testes de laboratoriais (BRASIL, 2009). Entretanto, alguns fatores influenciam na condução do teste, tais como a concentração da solução, temperatura e o tempo de exposição a solução (PAIVA et al., 2017).

A utilização de testes rápidos para avaliar a qualidade das sementes é importante, principalmente para agilizar decisões quanto ao manejo e destino de lotes durante as etapas de pós-colheita das sementes. Os testes que demandam períodos de tempo curto fundamentam-se

nos eventos iniciais da deterioração, baseando-se na integridade das membranas celulares e na redução das atividades enzimáticas e respiratórias das sementes, como o teste de tetrazólio (DELOUCHE; BASKIN, 1973). Esse teste tem se mostrado como uma alternativa interessante pela qualidade e rapidez na determinação da viabilidade e do vigor da semente, permitindo obter resultados, de modo geral, em menos de 24 horas (DIAS; ALVES, 2008).

O teste de tetrazólio se baseia na atividade de um grupo de enzimas, as desidrogenases, que reduzem o sal 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio nos tecidos vivos da semente, pela reação de íons de hidrogênio que são transferidos para o referido sal (DELOUCHE et al., 1976). O composto formado é o formazam, de coloração vermelha, estável e indifusível, que colore o tecido vivo do embrião. O formazam é produto da redução do sal que ocorre apenas no interior das células vivas e, por isso, os tecidos mortos não colorem.

No Brasil, o teste de tetrazólio é amplamente utilizado para controle de qualidade de lotes de sementes, em uma proporção ainda maior do que naqueles países onde o teste foi desenvolvido. Suas técnicas foram melhoradas em virtude da tecnologia ofertada ao passar dos anos, especialmente no que se refere a determinação do índice de vigor. Isso fez com que várias culturas ao redor do mundo tivessem suas próprias metodologias para execução do teste (FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI, 2019).

De acordo com Zorzal et al. (2015), é importante ressaltar que cada semente possui particularidades no teste de tetrazólio. Algumas espécies precisam de pré-condicionamento, seguidos de métodos de preparo, assim como cortes longitudinais ou horizontais e escarificação. O mesmo acontece com a concentração e temperatura, onde cada espécie exige a sua especificidade para a realização do teste. Além disso, é imprescindível que haja o treinamento do avaliador, para que haja sempre um resultado conciso e desta maneira evitar interpretações equivocadas.

### **2.3. Teste de germinação**

O teste de germinação tem como objetivo avaliar a qualidade fisiológica dos lotes, determinar a taxa de semeadura e também é utilizado como padrão para a comercialização de sementes (MARCOS FILHO et al., 1987; ISTA, 2004). Segundo a ISTA (2007), a germinação é definida como a protrusão e desenvolvimento da plântula a partir do embrião. De acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) para a realização deste teste, é necessário que haja uma padronização e que todas as condições do teste sejam controladas, com o objetivo de obter um resultado confiável.

Segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), a avaliação deve ser feita por visualização do estágio de desenvolvimento das estruturas essenciais da plântula em questão. As sementes que germinaram podem ser consideradas normais ou anormais e as que não germinaram podem ser classificadas como mortas, dormentes ou duras.

A germinação de sementes de *Phlox* é irregular (SPECIALTY PERENNIALS, 2006), e tem sido relatada uma fraca emergência de plântulas em seu habitat natural (CHRISTIANSEN, 1967).

Embora uma pesquisa considerável tenha sido realizada sobre a germinação de sementes da espécie anual *P. drummondii*, há uma escassez de literatura científica sobre germinação nas espécies perenes de *Phlox*. Segundo NURSERY (2004), sugere estratificação a frio de 0 a 5 °C por 33 meses a 38 °F por 2 meses para interromper a dormência em sementes de *P. pilosa*. A Specialty Perennial (2006), recomenda o congelamento das sementes de *P. pilosa* por 2 semanas antes da sementeira. A taxa de germinação e a uniformidade de muitas espécies de flores silvestres podem ser melhoradas pela estratificação a frio. Em um estudo de germinação de 91 espécies de pradarias de Wisconsin, Greene e Curtis (1950), observaram que a germinação de sementes de *Phlox pilosa* aumentou de 2% para 10% após a estratificação a 6 °C por 40 meses. A maioria das espécies da pradaria testadas por esses pesquisadores respondeu positivamente à estratificação a frio.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no laboratório do Banco de Germoplasma de Sementes Ornamentais (OPGC), no Departamento de agricultura da The Ohio State University (OSU).

Foram utilizadas sementes de sete espécies do gênero *Phlox*: *Phlox drummondii*, *Phlox pilosa*, *Phlox carolina*, *Phlox divaricata*, *Phlox amplifolia* e *Phlox glaberrima*. Estas sementes foram colhidas na fazenda experimental do setor de horticultura da OSU, na cidade de Columbus, norte dos Estados Unidos e armazenadas em câmara fria (10 °C), entre os anos de 2014 e 2017.

Tabela 1 - Espécies identificadas e anos de colheita de cada acesso utilizado no experimento

Espécies	Anos de colheita				
	2014	2015	2016	2017	2018
<i>P. amplifolia</i>		✓	✓	✓	
<i>P. carolina</i>	✓	✓		✓	✓
<i>P. divaricata</i>		✓		✓	
<i>P. glaberrima</i>	✓	✓	✓		
<i>P. pilosa fulgida</i>	✓	✓	✓		
<i>P. pilosa riparia</i>	✓	✓	✓	✓	
<i>P. pucherima</i>	✓	✓		✓	

#### 3.1. Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio seguiu o modelo recomendado para cultura pelo “Tetrazolium testing handbook” (AOSA/CST, 2010) com algumas adaptações.

### 3.1.2 Pré-condicionamento

Foram seleccionadas 48 sementes colocadas em papel absorvente bem úmido em caixas de germinação mantidas em uma câmara Percival® a 25°C por 24 horas;

Figura 2 – Embebição das sementes para o teste de tetrazólio



Fonte: arquivo pessoal

### 3.1.3 Preparação e coloração

Após a embebição, as sementes foram cortadas longitudinalmente e as duas metades de cada uma delas foram colocadas em uma placa com 96 orifícios. Cada orifício recebeu aproximadamente 1 mL da solução a 0,2% p/v Tz (*Sigma Chemical*), em seguida a placa foi embrulhada em papel alumínio e incubada por 4 horas a 30 °C com ausência total de luz.

Figura 3 – Sementes devidamente cortadas e posicionadas individualmente na placa do teste de tetrazólio

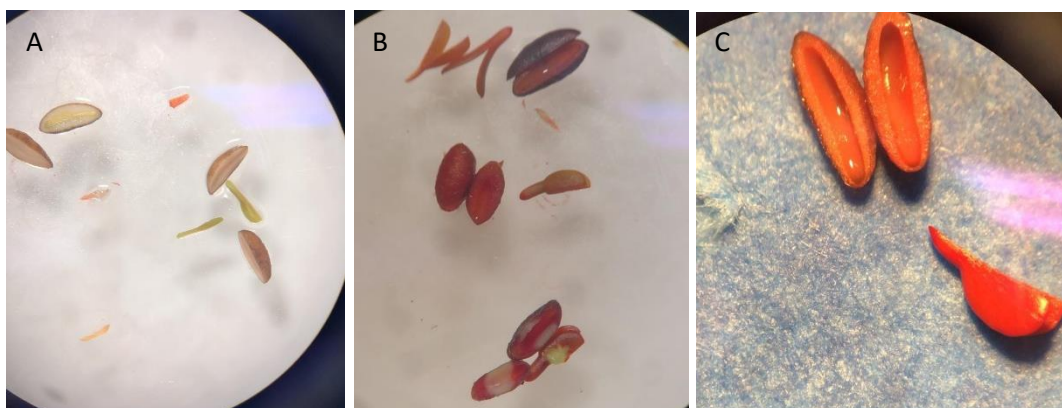


Fonte: Do autor (2019).

### 3.1.4. Avaliação do teste do tetrazólio

As sementes foram avaliadas e categorizadas em três níveis: germináveis, potencialmente germináveis e não germináveis, dependendo do padrão de coloração, ou seja, local e intensidade observados. As sementes viáveis apresentavam uma cor vermelha uniforme, com grande potencial para gerar uma plântula normal. As sementes não viáveis apresentaram uma coloração branca ou parcialmente branca, com indicativo de que provavelmente não germinariam. As sementes classificadas como potencialmente germináveis têm capacidade de germinar, mas possivelmente gerarão uma plântula anormal ou não germinarão.

Figura 4 – Aspecto das sementes do gênero *Phlox* após a realização do teste de tetrazólio. Legenda: (A) não-germinável; (B) potencialmente germinável; (C) germinável.



Fonte: Do autor (2019).

### 3.2. Teste de germinação

Foram utilizadas 200 sementes de cada lote de cada espécie em seus respectivos anos de colheita. As sementes foram condicionadas em placas de ágar e em sequência divididas em quatro repetições de 50 sementes. A proporção utilizada foi de 10 gramas de ágar para cada litro de água destilada e, posteriormente, foi levada ao microondas, por cinco minutos em cada vez. Após, foram distribuídos 20 mL nas placas pelo dispensador Omnisense®.

As sementes foram tratadas com fungicida Captan para que as interferências fúngicas fossem minimizadas no processo. Todas as espécies perenes foram submetidas a um tratamento a frio (estratificação), armazenadas em uma temperatura de 4°C por no máximo 12 semanas, com exceção da espécie anual (*Phlox drumondii*), que foi levada diretamente ao germinador. Aquelas que eventualmente iniciassem o processo de germinação antecipadamente, deveriam ser retiradas do cooler. Após o processo de estratificação, as sementes foram conduzidas a um germinador com uma temperatura de 15 °C e as contagens eram feitas semanalmente, até todas as sementes fossem reconhecidas como normais ou por até quatro semanas.



### 3.2.1. Avaliação do teste de germinação

As plântulas com sistema aéreo e radicular formados foram consideradas como plântulas normais. Aquelas que, por algum motivo, o sistema radicular ou aéreo não estava bem desenvolvido, foram considerados anormais. Outras, tomadas por atividade fúngicas, com a coloração escura e vazia, foram consideradas mortas. E as sementes consideradas dormentes, possuíam aspecto de semente dura, porém não germinaram.

Figura 5 – Aspectos das sementes do gênero *Phlox* e plântulas no teste de germinação. Legenda: (A) plântula anormal; (B) plântula normal; (C) semente morta.



Fonte: Do autor (2019).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de germinação e de tetrazólio da espécie anual *Phlox drummondii* obtidos em laboratório são apresentados na tabela 1. Os acessos eram identificados de acordo com o ponto de maturação em que foi colhido, local de plantio ou subespécie. Foi possível observar que houve uma relação entre os resultados dos testes de tetrazólio e de germinação, onde aqueles acessos que apresentaram uma alta porcentagem de viabilidade no teste de tetrazólio, o mesmo ocorreu no teste de germinação, com altos percentuais de plântulas normais. Os acessos que demonstraram baixa viabilidade no teste de tetrazólio, apresentaram, também, um elevado número de sementes mortas.

Pelos resultados pode se verificar que o local de plantio é uma variável que deve ser levada em consideração. A “OPGC 3478” colhida no local denominado A, obteve um melhor desempenho quando comparada ao local B.

Tabela 1 – Resultados do teste de tetrazólio e do teste de germinação de sementes de diferentes lotes da espécie anual *Phlox drummondii*

Lotes de Sementes	Teste de Tetrazólio (%)	Teste de Germinação (%)			
		Normais	Anormais	Mortas	Dormentes
“Yellow Phlox”	98	92	1	2	5



PI 601603 (cultura de tecidos)	95	78	3	11	8
PI 601603	95	76	6	16	2
OPGC 3478 (A)	54	62	2	28	8
OPGC 3478 (B)	8	0	0	100	0
OPGC 3477 (L)	2	0	0	100	0
OPGC 3477 (H)	0	0	0	100	0

Na espécie *Phlox pilosa* observa-se diferentes variações em valores de tetrazólio e germinação (Tabela 2). A subespécie *Pilosa riparia* observa-se altos índices (acima de 70%) de viabilidade no teste de tetrazólio em todos os anos de colheita (2014, 2015, 2016 e 2017), porém, a incidência de plântulas normais no teste de germinação não segue a mesma tendência do tetrazólio. Isso pode ser explicado pela elevada taxa de sementes dormentes, ou seja, as que apesar de não germinarem, não se é capaz de determinar se será gerada uma plântula normal ou anormal

A subespécie *Pilosa fulgida* apresentou melhor desempenho no teste de tetrazólio no ano de 2016, acompanhado pelos valores do teste de germinação, que também foram elevados. Nas sementes colhidas em 2017, é interessante ressaltar a alta incidência de plântulas anormais, o que é de difícil identificação com propriedade no teste de tetrazólio.

Tabela 2 – Resultados do teste de tetrazólio e do teste de germinação de sementes de diferentes subespécies de *Phlox pilosa* colhidas em diferentes anos.

Espécies	Lotes de Sementes	2014						
		Teste de Tetrazólio (%)			Teste de Germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Pilosa riparia</i>	OPGC 3965	88	-	12	42	4	49	5
<i>Pilosa fulgida</i>	OPGC 3567	50	6	44	12	23	5	60
2015								
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Pilosa riparia</i>	OPGC 3965	88	-	17	42	11	39	8
<i>Pilosa fulgida</i>	OPGC 3567	67	6	27	19	45	10	26
2016								
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Pilosa riparia</i>	OPGC 3965	92	-	8	37	3	60	0
<i>Pilosa fulgida</i>	OPGC 3567	92	4	4	74	14	11	1
2017								
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Pilosa riparia</i>	OPGC 3965	96	0	4	28	4	68	0

*Phlox carolina* (tabela 3) apresentou uma alta incidência de fungos no teste de germinação nos acessos de 2014 e 2015, o que torna os resultados não muito consistentes. As sementes colhidas no ano de 2017 foram pouco afetadas pela atividade fúngica, o que pode explicar a alta compatibilidade entre os testes de tetrazólio e de germinação.

Tabela 3 - Comparação entre os resultados do teste de tetrazólio e valores médios do teste de germinação de *Phlox carolina* colhidas em diferentes anos.

Espécies	Lotes de sementes	2014						
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Carolina</i>	<b>OPGC 3611</b>	48	-	52	0	4	49	47
		2015						
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormente	Mortas
<i>Carolina</i>	<b>OPGC 3611</b>	81	-	19	1	16	57	26
		2017						
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Carolina</i>	<b>OPGC 3611</b>	32	54	14	24	35	21	20

A tabela 4 verifica-se que as sementes do lote 2015 da espécie *Phlox divaricata* apresentou valores médios de plântulas consideradas normais reduzidos porém com um alto índice de sementes dormentes e mortas. O teste de tetrazólio exibe valores superestimados de sementes viáveis, contudo se compara ao de germinação em sementes que não germinaram.

Tabela 4 - Comparação entre os resultados do teste de tetrazólio e valores médios do teste de germinação de *Phlox divaricata* em sementes colhidas no ano de 2015.

Espécie	Lote de sementes	2015						
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Divaricata</i>	<b>OPGC 3941</b>	19	23	58	1	2	33	64

Estão dispostos na tabela 5 os resultados obtidos do teste de germinação e de tetrazólio da espécie *Phlox amplifolia*. Observa-se uma coerência entre os resultados do teste de tetrazólio e de germinação nos lotes de sementes colhidos anos de 2015 e 2017. O ano de 2016 houve um grande ataque de fungos que elevou significativamente a taxa de sementes mortas.

Tabela 5- Comparação entre os resultados do teste de tetrazólio e valores médios do teste de germinação de *Phlox amplifolia* em sementes colhidas nos anos de 2015, 2016 e 2017.

Espécie	Lote de sementes	2015						
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Amplifolia</i>	OPGC 4072	44	31	25	26	35	20	19
		2016						
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Amplifolia</i>	OPGC 4072	42	21	37	5	33	0	62
		2017						
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Amplifolia</i>	OPGC 4072	56	21	23	55	18	15	12

As sementes dos lotes colhidos nos anos de 2015, 2016 e 2017 apresentaram qualidade elevada, de acordo com os resultados dos testes de tetrazólio e de germinação, com altos percentuais de germinação, porém com muitas plântulas anormais ou dormentes (Tabela 6). No ano de 2015, houve três locais de colheita distintos, e o “plot 4” se destaca pelo alto percentual de viabilidade no teste de tetrazólio e, no teste de germinação, alta incidência de plântulas anormais e dormentes, o que é muito difícil de ser observado no teste de tetrazólio.

Tabela 6 - Comparação entre os resultados do teste de tetrazólio e valores médios do teste de germinação de *Phlox maculata* em sementes colhidas nos anos de 2014, 2015 e 2016 e 2017.

Espécie	Lote de sementes	2014						
---------	------------------	------	--	--	--	--	--	--

		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Maculata</i>	OPGC 3447	4	28	68	0	11	28	61
<b>2015 - Plot RB, Row 6, Cage 12</b>								
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Maculata</i>	OPGC 3447	52	-	48	2	53	19	26
<b>2015 - Plot 4</b>								
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Maculata</i>	OPGC 3447	81	-	19	11	55	13	21
<b>2015 - Har, grn, pods</b>								
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Maculata</i>	OPGC 3447	73	-	27	9	32	36	23
<b>2016</b>								
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Maculata</i>	OPGC 3447	75	-	25	32	22	39	7
<b>2017</b>								
		TZ			Germ. Test			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Maculata</i>	OPGC 3447	83	6	11	65	18	6	11

Na tabela 7, encontram-se os resultados da sétima espécie estudada neste trabalho, a *Phlox glaberrima*, onde se observa pouca coerência entre os resultados dos testes de tetrazólio e de germinação, com alta incidência de fungos e sementes dormentes. Há um elevado percentual de viabilidade no teste de tetrazólio, nas sementes colhidas nos anos de 2015, 2016 e 2017, e baixo percentual de sementes mortas nos mesmos anos, porém há uma quantidade significativa de sementes dormentes.

Tabela 7 - Comparação entre os resultados do teste de tetrazólio e valores médios do teste de germinação de *Phlox glaberrima* em sementes colhidas nos anos de 2014, 2015 e 2016 e 2017.

Espécie	Lote de sementes	2014						
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			

		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Glaberrima</i>	OPGC 3442	31	-	69	2	5	57	36
<b>2015</b>								
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Glaberrima (A)</i>	OPGC 3442	81	-	19	20	4	54	22
<i>Glaberrima (B)</i>	OPGC 3442	77	-	23	8	13	49	30
<b>2016</b>								
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormente	Mortas
<i>Glaberrima</i>	OPGC 3442	94	-	6	46	11	36	7
<b>2017</b>								
		Teste de tetrazólio (%)			Teste de germinação (%)			
		G	PG	NG	Normais	Anormais	Dormentes	Mortas
<i>Glaberrima</i>	OPGC 3442	85	-	15	51	11	32	6

Nas comparações entre os resultados dos dois testes estudados, observa-se que o teste de tetrazólio é uma ótima ferramenta para tornar a avaliação da qualidade de um lote de sementes de *Phlox* mais rápida e prática. No entanto, várias situações devem ser avaliadas antes de fazer a avaliação final. A tabela 8 contém os valores da correlação linear entre os resultados dos testes de tetrazólio e de germinação. As porcentagens de viabilidade no teste de tetrazólio foram divididas em quatro classes: 0 a 25%, 25 a 50%, 50 a 75% e 75 a 100%. Observou-se que os valores de correlação para as classes extremas estavam mais próximos de 1, o que significa uma relação coerente entre germinação e tetrazólio, nestas classes. No entanto, outros fatores podem ter afetados resultados do teste de germinação, sendo o principal o ataque de fungos, os quais estavam muito presentes, principalmente nos lotes em que os resultados do teste de tetrazólio estavam baixos. No entanto, ainda foram observados fungos em alguns lotes de sementes onde teste de tetrazólio indicou alto percentual de sementes viáveis.

Tabela 8 – Coeficientes de correlação linear entre os resultados do teste de tetrazólio e de germinação, por classes de viabilidade.

	Correlação				
<b>TZ</b>	0 a 25%	25 a 50%	50 a 75%	75 a 100%	Geral
<b>TZ X TG</b>	0,919775	-0,273631	0,736802	0,637161	0,6798622

## **5. CONCLUSÃO**

Os testes de tetrazólio e germinação são complementares para avaliar o potencial das sementes do gênero *Phlox*.

O teste de germinação ainda não pode ser descartado, portanto sugere-se que o teste de tetrazólio deva ser feito como um teste preliminar e quando não houver resultados consistentes, o fazer.

A correlação linear mostra que valores extremos de tetrazólio (0 a 25% e 75 a 100%) corresponderam a uma boa correlação com a germinação.

As diferentes condições edafoclimáticas nos anos de colheita interferem na qualidade fisiológica em sementes do gênero *Phlox*.

## 6. REFERÊNCIAS

- CHRISTMANN, S. **Phlox drummondii**. [S.I.]. 6/12/99, Disponível em: <https://floridata.com/plant/551>. Acesso em: 12/03/2020)
- BRAND, A. **Polemoniaceae**. 1907. A Engler, Das Pflanzenreich, 250p..
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399 p.
- ASAKAWA, B; ASAKAWA, S. California Gardener's Guide, California 34-35p
- Christiansen. P.A.1967. **Establishment of prairie species in Iowa by seeding and transplanting**. University of Iowa.
- DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, v. 1, p. 427-452, 1973.
- DELOUCHE, J.C.; STILL, T.W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília, DF: AGIPLAN, 1976. 103p.
- DIAS, M. C. L. L.; ALVES, S. J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Panicum maximum* Jacq pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 3, p. 152-158, 2008.
- Grant, V. 1959. **Natural history of the Phlox family**. Rancho Santa Ana Botanic Garden and Claremont Graduate School. Claremont, CA.
- GUIMARÃES, R. M. Fisiologia de sementes. Lavras: UFLA, 1999. 132 p.
- INTERNATIONAL RULES FOR SEED TESTING. **International rules for seed testing**. Zurich, 2007. 403p
- INTERNATIONAL RULES FOR SEED TESTING. **International rules for seed testing**. Zurich, 2004. 180 p
- FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C. Tetrazólio: um teste de importância para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 3, p. 359-366, 2019.
- KELLY, J. P.. A genetical study of flower form and flower color in *Phlox drummondii*. **Genetics**, v. 5, n. 2, p. 189-248,, 1920.
- MISSOURI BOTANICAL GARDEN. **Phlox drummondii**. Saint Louis, Missouri. [S.I.] Disponível em: <https://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=285429&isprofile=0&>. Acesso em: 12/03/2020)
- PAIVA, E. P. et al. Teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de maxixe. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 48, n. 1, p. 118-124, 2017.

SAVONEN, E. An improvement to the topographic tetrazolium testing of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 26, n. 1, p. 49-57,1999.

Specialty Perennials. Seed catalog. **Specialty Perennials**. Apple Valley, MN13 Feb. 2006. Disponível em: [www.hardyplants.com](http://www.hardyplants.com) Acesso em 17 abr. 2020

THE PRIMORSE PATH. **Phlox, an exploration**. USA, [S.I.] Disponível em: <https://www.theprimrosepath.com/phlox/whatisaphlox1.htm>. Acesso em: 13/03/2020)

UNIVERSITY OF TEXAS. **Phlox database**. Texas, USA. 16.07.2008. Disponível em: [https://www.wildflower.org/plants/result.php?id\\_plant=PHDR](https://www.wildflower.org/plants/result.php?id_plant=PHDR). Acesso em: 12/03/2020)

ZORZAL, T. A. Teste do tetrazólio para estimativa da viabilidade de sementes. **Natureza online**, v. 13, n.3, p. 144-149, 2015.