

A primeira fase para estabelecer estratégias para conservação ex situ de uma espécie vegetal é determinar o comportamento das sementes em armazenamento. A sensibilidade à dessecação de sementes pode limitar a conservação de algumas espécies, particularmente de árvores e arbustos de regiões tropicais úmidas. Esta folha de informações oferece um guia prático para identificar a sensibilidade de sementes à dessecação.

Comportamento de sementes em armazenamento se refere à capacidade de sementes sobreviverem à dessecação:

- Sementes tolerantes à dessecação, ou ortodoxas, podem ser secas sem danos, a baixos conteúdos de água (mc). A longevidade aumenta com a redução do mc e temperatura, de maneira quantificável.
- Sementes sensíveis à dessecação, ou recalcitrantes, não sobrevivem à secagem em alto grau, e portanto não são passíveis de armazenamento em longo prazo, embora níveis críticos de umidade para sobrevivência são variáveis entre as espécies.
- Sementes intermediárias toleram secagem a ~ 8% de mc. Geralmente, perdem viabilidade mais rapidamente a baixas temperaturas e não resistem ao armazenamento a -20°C.

Como saber se as sementes são sensíveis à dessecação?

- Base de dados de Kew RBG [Seed Information Database](#). Esta base de dados contém informação para mais de 10.600 espécies.
- Teste de tolerância à dessecação: Protocolos [Hong & Ellis (1996)] para determinar o comportamento de sementes são baseados na secagem a 2 ou 3 níveis diferentes de umidade e avaliação da germinação. Até o momento, cerca de 540 espécies com sementes sensíveis à dessecação foram identificadas pelo Millennium Seed Bank, usando este protocolo.

A maioria destas são árvores e arbustos; algumas poucas espécies herbáceas produzem sementes sensíveis à dessecação. Se poucas sementes estiverem disponíveis, um teste com 100 sementes (ver box na página seguinte) pode fornecer indicações preliminares sobre tolerância à dessecação.

• **Morfologia da semente:**

Uma boa indicação da sensibilidade à dessecação pode ser fornecida pela morfologia da semente. Com exceção das palmeiras, sementes sensíveis à dessecação tendem a ser grandes com um fino tegumento. Um modelo recentemente desenvolvido (ver página seguinte), utiliza a relação entre peso e tegumento (SCR = massa do tegumento: massa total da semente) para prever a probabilidade de espécies lenhosas que possuem sementes sensíveis à dessecação.

• **Procedência da sementes:**

Isso também pode fornecer pistas sobre a probabilidade de tolerância à dessecação.

- Espécies de floresta tropical são mais propensas a produzir sementes sensíveis à dessecação.



Acima: *Washingtonia filifera*, espécie de palmeira que demonstrou ser tolerante à dessecação pelo teste de 100 sementes.

- Espécies de savana são mais propensas a produzir sementes tolerantes à dessecação.

- Palmeiras de regiões secas quase sempre tem sementes tolerantes à dessecação.

- Em ambientes secos, espécies que lançam suas sementes durante a estação chuvosa, são mais prováveis de ter sementes sensíveis à dessecação, que espécies que lançam sementes durante na seca.

- Contrariamente à crença comum, espécies aquáticas produzem sementes ortodoxas.

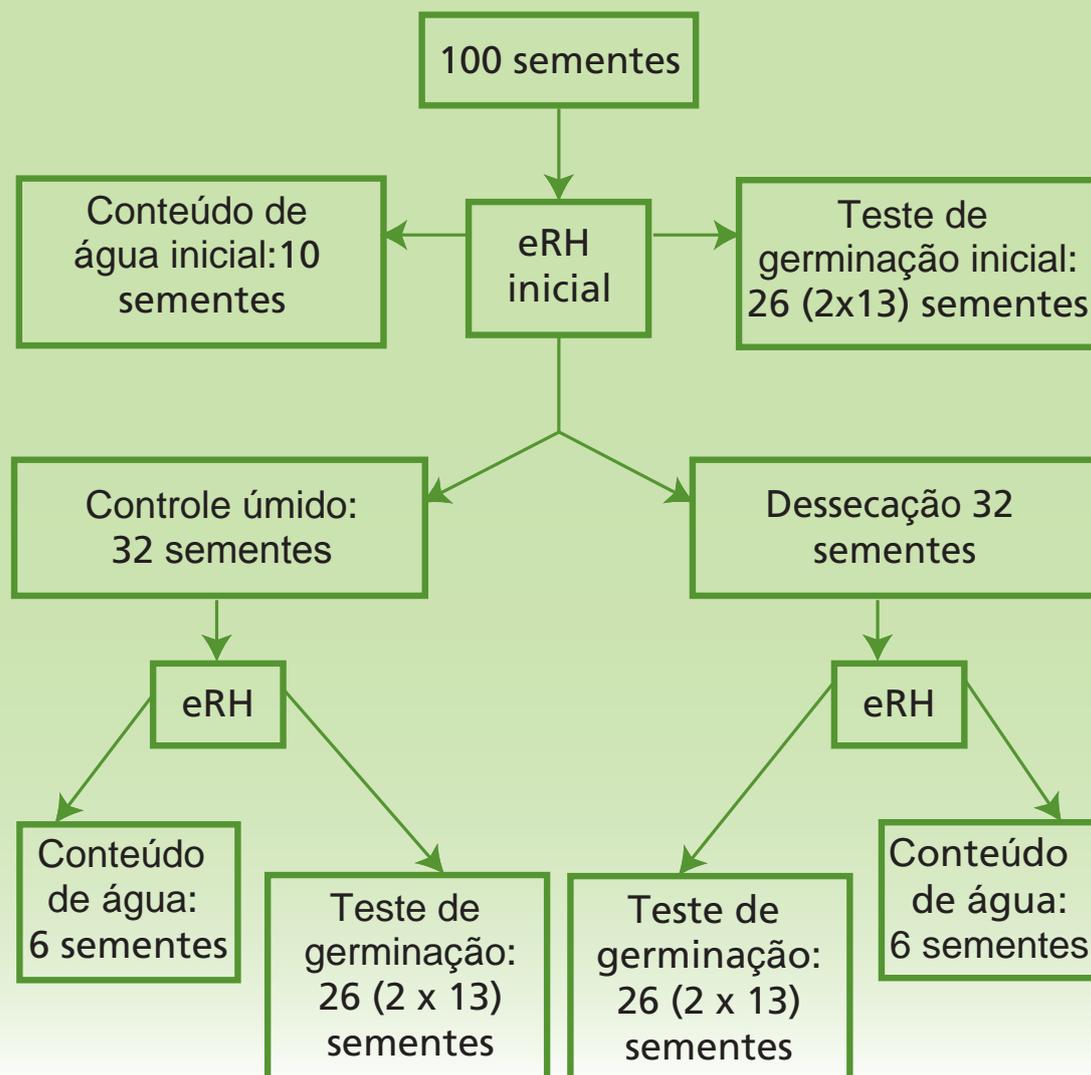
Abaixo: Corte longitudinal de uma semente *Aesculus hippocastanum*, uma espécie sensível à dessecação - observe o tegumento fino em comparação com o tamanho da semente.



Teste de 100 sementes para tolerância à dessecação

(adaptado de Pritchard *et al.*, 2004)

- Determine o equilíbrio de umidade relativa inicial (eUR) do lote de sementes com um higrômetro, usando sementes suficientes para preencher a câmara de amostra (ver Folha de Informações Técnicas_05).
- Determine o conteúdo de água (ISTA, 2007) de 10 sementes individuais.
- Realizar um teste de germinação inicial, em temperatura ideal para a espécie, para 2 amostras de 13 sementes.
- Secar 32 sementes misturando-as com um peso igual de sílica gel em um recipiente selado apropriado. Ao mesmo tempo, colocar 32 de sementes controle de umidade elevada, em um recipiente fechado, utilizando vermiculita umedecida ou papel de filtro, por exemplo, para manter as condições úmidas. Manter ambas as amostras em estufa a 15 °C (para as espécies temperadas) ou 25 °C (para as espécies tropicais).
- Para a amostra dessecada, trocar a sílica gel e pesar as sementes a cada 1-3 dias, dependendo do tamanho da semente. À medida que as sementes secam, seu peso diminui e a frequência de pesagem pode ser reduzida. Quando as sementes atingirem peso constante, no estado de equilíbrio, geralmente após 2-3 semanas, determinar eUR. A amostra deve ser seca até cerca de 15% eUR. Retire 6 sementes para determinar a umidade após a dessecação.
- O recipiente que contém as sementes controle deve ser aberto a cada 1-3 dias para permitir a aeração. Retirar a amostra controle, ao mesmo tempo que a amostra dessecada. Determinar a eUR e retirar 6 sementes para determinar a umidade, como acima.
- Realizar testes de germinação em duas amostras de 13 sementes, tanto da amostra dessecada quanto da controle.
- Plote uma curva do progresso da germinação (% de germinação x período de incubação) para a germinação inicial de sementes frescas, germinação após a dessecação e germinação após o armazenamento úmido (ver gráficos, direita). Note que este método irá distinguir entre espécies tolerantes à dessecação e espécies sensíveis à dessecação, mas não vai determinar as espécies classificadas como intermediárias.



Falsos Negativos

Triagem de tolerância à dessecação pode às vezes produzir resultados enganosos. As sementes germinadas após a secagem devem ser tolerantes à dessecação, mas as sementes que não germinaram nem sempre são sensíveis à dessecação.

A não germinação pode ser devido à:

- Imaturidade da semente

Sementes imaturas são sensíveis à dessecação. A maioria das sementes ortodoxas adquirem completa tolerância à dessecação pouco antes da dispersão natural. Certifique-se de só usar sementes completamente maduras nos testes.

- Condições não ótimas de germinação

Se as sementes apresentam dormência, use um tratamento adequado para superação tais como estratificação quente/frio ou escarificação mecânica. Também garantir que condições ambientais adequadas sejam aplicadas, incluindo temperatura alternada, luz, nitrato ou tratamento com fumaça. Realizar um teste de corte (ver Informação Técnica Folha_14) em sementes não germinadas no final do teste de germinação. Sementes frescas firmes são mais propensas a estarem dormentes do que serem sensíveis à dessecação. Conduzir teste de tetrazólio para identificar as sementes dormentes (ver a seguir).

- Germinação incipiente

As sementes que começam a germinar perdem a tolerância à dessecação. Se as sementes são mantidas em condições úmidas por muito tempo, podem começar a germinar. Conduzir os testes de tolerância à dessecação o mais rapidamente possível, após a coleta.

Teste de viabilidade de tetrazólio (ISTA, 2007)

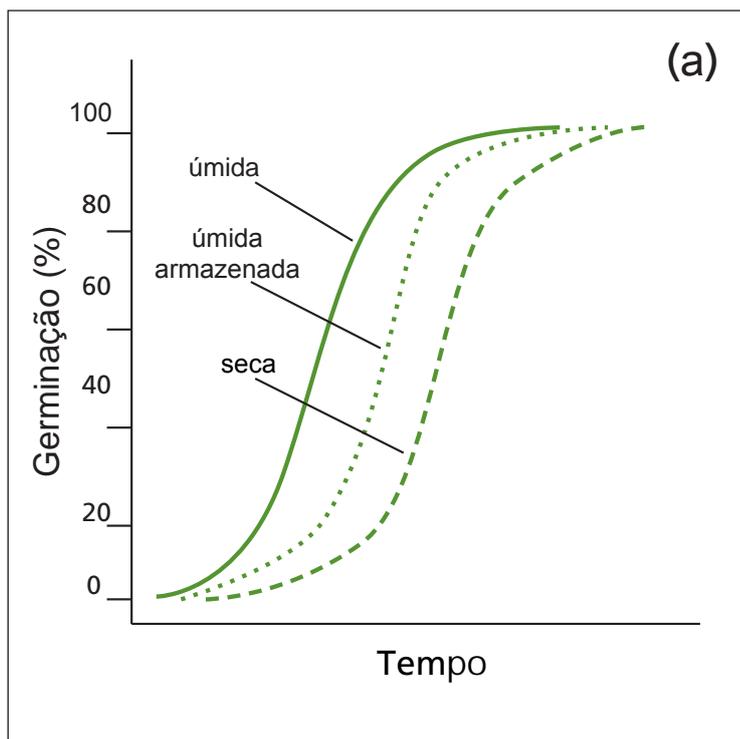
Este teste é usado para determinar quando uma semente não germinada ou parcialmente germinada continua viva (viável) ou está morta.

- Embeber uma amostra de semente deixando durante a noite a 20 ° C em uma placa de Petri sobre um banho de água, por exemplo, então dissecar cuidadosamente cada semente para expor o embrião.

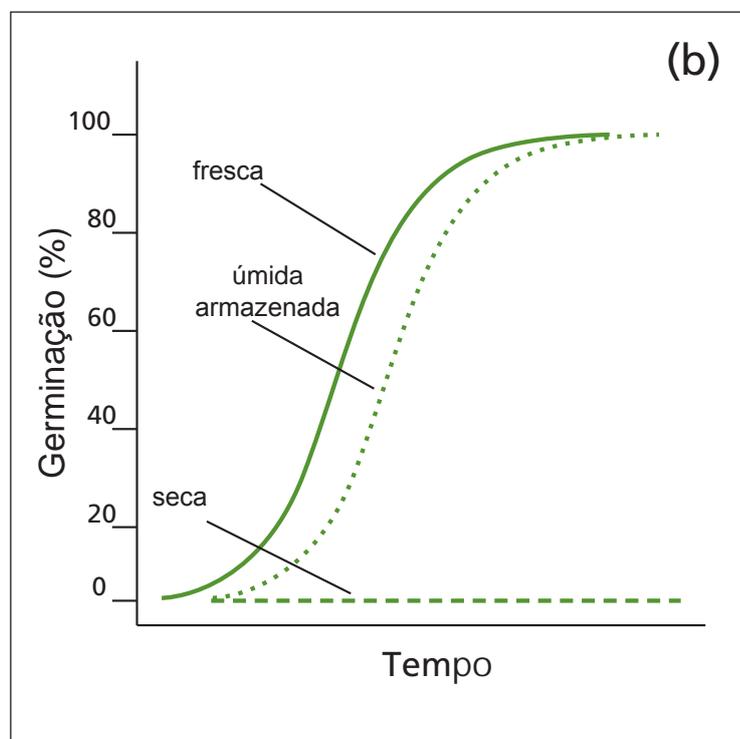
- Mergulhe as sementes em solução tamponada de cloreto de tetrazólio trifênil a 1% (TTC ou TZ) e manter no escuro por 1-2 dias.

- Cortar as sementes e examinar a olho ou usando um microscópio.

- O tecido vivo vai ficar corado em tons de vermelho, devido à ação de enzimas desidrogenases, enquanto tecidos mortos não serão corados.



Direita: Teste de 100 sementes para tolerância à dessecação - curva do progresso de germinação típica para (a) espécie tolerante à dessecação e, (b) uma espécie sensível á dessecação.



Predizendo sensibilidade à dessecação em espécies arbóreas

(adaptado de Daws *et al.*, 2006)

- Coletar uma amostra de frutos em dispersão natural; remover e limpar as sementes, mas não retirar o endocarpo lenhoso em torno das sementes formadas em bagas ou drupas
- Dissecar um mínimo de 8 sementes individuais (unidade de dispersão) em seus componentes: endocarpo/testa e embrião/endosperma.
- Secar a 103°C por 17 horas (ISTA, 2007) e determinar o peso seco.
- Calcular a Relação Semente Testa (SCR) como segue:

$$SCR = \frac{\text{peso seco das estruturas de revestimento (endocarpo e testa)}}{\text{peso seco total da unidade de dispersão}}$$

- Use a seguinte equação para prever a probabilidade de sensibilidade à dessecação (P):

$$P = \frac{e^{3.269 - 9.974a + 2.156b}}{1 + e^{3.269 - 9.974a + 2.156b}}$$

em que **a** é SCR e **b** é \log_{10} (peso seco da semente) em gramas. Este cálculo pode ser facilmente feito inserindo a seguinte fórmula em uma planilha eletrônica, como Excel (digitado em uma linha):

$$=EXP((3.269+(-9.974*B4)+(2.156*LOG(B5))))/(1+EXP((3.269+(-9.974*B4)+(2.156*LOG(B5)))))$$

Se P for maior que 0,5, a espécie provavelmente deve ser sensível à dessecação.

Abaixo: Imagem de Excel mostrando a fórmula para cálculo da sensibilidade à dessecação.

	A	B	C	D
1	A. Massa do embrião (g) =	2		
2	B. Massa do revestimento (g) =	2		
3				
4	Relação Sementes Revestimento	0,5		
5	Massa da semente (g) = A + B =	4		
6				
7	Probabilidade da semente ser recalcitrante (P) =	0,397		
8				
9	Se P < 0,5 a semente provavelmente é tolerante à dessecação / ortodoxa			
10	Se P > 0,5 a semente provavelmente é sensível à dessecação / recalcitrante			

Leituras recomendadas

Daws M.I., Garwood N.C. and Pritchard H.W. (2006). Prediction of desiccation sensitivity in seeds of woody species: a probabilistic model based on two seed traits and 104 species. *Annals of Botany* 97: 667- 674 (open access article).

Daws M.I., Garwood N.C. and Pritchard H.W. (2005). Traits of recalcitrant seeds in a semi-deciduous tropical forest in Panama: some ecological implications. *Functional Ecology* 19 (5): 874–885.

Hay F.R., Probert R.J., Marro J. and Dawson M. (2000). Towards the ex-situ conservation of aquatic angiosperms: a review of seed storage behaviour, pp. 161–177. In: M. Black, K.J. Bradford and J. Vazquez-Ramos (eds), *Seed Biology: advances and applications*. Commonwealth Bureaux Agricultural International, Wallingford, UK.

Hong T.D. and Ellis R.H. (1996). A protocol to determine seed storage behaviour. IPGRI Technical bulletin No.1. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. ISTA (2007). *International Rules for Seed Testing*. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.

Leist N. and Krämer S. (2003). Working sheets on tetrazolium testing, 1st edition 2003. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.

Royal Botanic Gardens Kew (2014). Seed Information Database (SID). Version 7.1. Disponível em: <http://data.kew.org/sid/> (August 2014).

Pritchard H.W., Daws M.I., Fletcher B., Gaméné C., Msanga H. and Omondi W. (2004). Ecological correlates of seed desiccation tolerance in tropical African dryland trees. *American Journal of Botany* 91 (6): 863-870.

Pritchard H.W., Wood C.B., Hodges S. and Vautier H.J. (2004). 100-seed test for desiccation tolerance and germination: a case study on eight tropical palm species. *Seed Science and Technology* 32 (2): 393-403.

Tweddle J.C., Dickie, J.B. Baskin C.C. and Baskin J.M. (2003). Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. *Journal of Ecology* 91 (2): 294-304.

Especificação de equipamentos

Descrição	Modelo/Produto	Fornecedor
Higrômetro de laboratório	Sensor HC2-AWcom interface USB conectado a um computador com software HW4-E . Variação: 0 a 100% RH, -40 a 85 °C.	Rotronic Instruments (UK) Ltd. www.rotronic.com
Estufa com circulação de ar	Genlab 100 litros (Mino/100 dig/f), vertical: 467-063	Jencons PLS www.ecomcat.com
Incubadora refrigerada com degelo	LMS 280A	LMS Ltd. www.lms.ltd.uk

Nota: os equipamentos acima citados são utilizados pelo Projeto Millenium Seed Bank e foram cuidadosamente escolhidos utilizando nossos anos de experiência. A lista de fornecedores é somente um guia e não representa apoio do Royal Botanic Garden Kew ou da Embrapa. As instruções dos fabricantes devem ser seguidas quando for utilizado qualquer equipamento relacionado nesta publicação informativa.