

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE CANELA-PRETA (*Ocotea catharinensis* Mez-LAURACEAE) PELA CULTURA *in vitro* DE EIXOS EMBRIONÁRIOS E PELO TESTE DE TETRAZÓLIO*

Antonio da SILVA**
Ivor Bergemann de AGUIAR***

RESUMO

Objetivando avaliar com rapidez a qualidade fisiológica das sementes de *Ocotea catharinensis* (canela-preta), foram aplicadas técnicas de desenvolvimento *in vitro* de eixos embrionários e do teste bioquímico de viabilidade. Os eixos embrionários, após serem isolados, foram colocados em meio de cultura (RM-64) com e sem a adição de carvão ativado, bem como na presença e ausência de luz. Foi possível avaliar em duas a três semanas a qualidade fisiológica das sementes e os resultados mostraram que o carvão ativado não influenciou o desenvolvimento dos eixos embrionários e que a luz estimulou o desenvolvimento das plântulas. No teste de viabilidade, após a imersão das sementes em água destilada, os cotilédones foram separados para expor o eixo embrionário e a seguir imersos durante uma e duas horas em solução de tetrazólio, nas concentrações de 0,1%, 0,3% e 0,5%. A imersão por uma hora a 0,3% permitiu avaliar adequadamente a viabilidade das sementes.

Palavras-chave: *Ocotea catharinensis*; semente florestal; cultura *in vitro* de eixo embrionário; tetrazólio; viabilidade; germinação.

1 INTRODUÇÃO

A canela-preta (*Ocotea catharinensis*) é espécie de grande valor econômico, cuja madeira pode ser utilizada para assoalho, móveis, construção civil, dormente, caibro e moirões, além de outras aplicações. Segundo CARVALHO (1994), ela é uma espécie clímax da Mata Atlântica, que aparece na fase de capoeirão durante o processo de sucessão secundária.

Essa essência ocorre naturalmente desde o Estado de São Paulo até o do Rio Grande do Sul (LORENZI, 1992; BAITELLO, 1992 e CARVALHO, 1994). É uma espécie ameaçada de extinção que se

ABSTRACT

The objective of this research was to use the techniques of the *in vitro* culture of embryo and the tetrazolium test to evaluate quickly the physiological quality of *Ocotea catharinensis* seeds. The excised embryonic axes were incubated in a culture medium (RM-64), with and without activated coal and light. It was possible to evaluate in two or three weeks the physiological quality of the seeds and the results showed that the activated coal didn't increase the development of the embryonic axes and that the light stimulated the development of the seedlings. The exposure of embryonic axis in the viability test, the cotyledons were isolated after immersion of the seeds in distilled water. After that, the cotyledons were immersed into tetrazolium salt solution at 0.1%, 0.3% and 0.5% during one and two hours. The immersion for one hour at 0.3% was effective to evaluate the viability of the seeds.

Key words: *Ocotea catharinensis*; forest seed; *in vitro* culture of embryo; tetrazolium; viability; germination.

encontra protegida em Parques e Reservas, mas há necessidade de implantação de outras áreas dessa natureza (BAITELLO, 1992).

As espécies arbóreas do grupo das clímax geralmente apresentam frutificação muito irregular e suas sementes são de curta longevidade (KAGEYAMA & VIANA, 1991). Acompanhando o florescimento e a frutificação de 17 árvores de *Ocotea catharinensis* no Parque Estadual da Cantareira, São Paulo, de 1988 a 1995, SILVA (1997) verificou que apenas algumas árvores produziram pequena quantidade de sementes em 1988, 1990 e 1994, e que nos demais anos nenhuma árvore produziu sementes.

(*) Parte da Dissertação de Mestrado apresentada pelo primeiro autor em 21/02/97 à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP de Jaboticabal, SP, apresentado no X Congresso Brasileiro de Sementes, realizado em Curitiba, PR, no período de 17 a 22 de agosto de 1997, e aceito para publicação em dezembro de 1998.

(**) Instituto Florestal, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, Brasil.

(***) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, Rodovia Carlos Tonanni km 5, 14870-000, Jaboticabal, SP, Brasil. (Bolsista do CNPq)

SILVA, A. da & AGUIAR, I. B. de. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de canela-preta (*Ocotea catharinensis* Mez-Lauraceae), pela cultura *in vitro* de eixos embrionários e pelo teste de tetrazólio.

A irregularidade de produção e a baixa produtividade da maioria das espécies florestais clímax fazem com que muitas vezes não se obtenha, na mesma colheita, quantidade de sementes suficiente para compor a amostra média contendo o número mínimo recomendado pelas regras para análise de sementes (FIGLIOLIA *et al.*, 1993). Além disso, sementes de muitas espécies florestais nativas requerem longo período para completar o teste de germinação (PIÑA-RODRIGUES & VALENTINI, 1995).

Alguns pesquisadores procuraram substituir o teste padrão de germinação por métodos mais rápidos e utilizaram menor quantidade de sementes (PÁSZTOR, 1962/63; HANDRO, 1968 e REIS & RENA, 1987). Dois testes que podem ser utilizados com esse objetivo, de acordo com PÁSZTOR (1962/63), são a cultura de embriões (desenvolvimento de eixos embrionários) e o teste de tetrazólio (teste bioquímico de viabilidade).

Diante dos fatos abordados, este trabalho teve por objetivo a aplicação dessas técnicas para avaliar a qualidade fisiológica das sementes de *Ocotea catharinensis*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Desenvolvimento *in vitro* de Eixos Embrionários

A terminologia "cultura de embrião" tem sido empregada para descrever o processo de crescimento do embrião *in vitro*, independente da idade, tamanho e estágio de desenvolvimento em que o embrião foi excisado, extraído ou isolado (TORRES & LACORTE, 1995). Os autores citaram o trabalho pioneiro de Hanning (1904), que cultivou embriões maduros de *Cochlearia danica* e de três espécies do gênero *Raphanus*, em meio de cultura constituído de sais minerais, açúcares e aminoácidos.

Uma vez extraído, o embrião é inoculado no meio de cultura com a parte radicular voltada para o interior do meio, sendo freqüente o cultivo apenas do eixo embrionário, uma vez que os cotilédones geralmente são descartados durante o isolamento (TEIXEIRA, s.d.). O autor relatou que o meio de cultura básico é constituído de macro e

m micronutrientes, açúcares, vitaminas, aminoácidos, mio-inositol e agar.

A fórmula de Murashige & Skoog (1962), citada por TEIXEIRA (s.d.), é a mais utilizada, podendo ser empregada completa ou reduzida à metade da concentração original. O autor ressaltou que a adição de carvão ativado ao meio de cultura, na concentração de 0,1% a 0,5%, pode contribuir para um melhor desenvolvimento do embrião e do sistema radicular. Enfatizou ainda que a faixa de temperatura variando de 25 a 28°C é favorável ao desenvolvimento do embrião da maioria das espécies.

Poucos trabalhos com embriões isolados foram realizados com espécies florestais nativas. PÁSZTOR (1962/63) demonstrou a possibilidade do uso dessa técnica na determinação da germinação das sementes de *Araucaria angustifolia* obtendo, em apenas uma semana, resultado muito aproximado ao obtido no teste padrão de germinação, que teve a duração de 65 dias. CABRAL (1986) cultivou embriões de *Orbignya martiana*, em meio de cultura, e concluiu pela possibilidade de obtenção de mudas *in vitro* dessa espécie.

REIS & RENA (1987) obtiveram elevada porcentagem de germinação de eixos embrionários isolados de *Pterodon pubescens*, sugerindo que os embriões apresentam desenvolvimento morfofisiológico completo, sendo dotados de viabilidade e alta capacidade germinativa. A multiplicação dessa espécie por meio de sementes é difícil e os autores consideraram que deve haver algum mecanismo de dormência controlando sua germinação.

2.2 Teste Bioquímico de Viabilidade

Entre vários produtos químicos testados para avaliar a qualidade fisiológica das sementes, baseados na coloração de seus tecidos vivos, o sal de tetrazólio (2, 3, 5 trifênil cloreto) vem sendo o mais utilizado (PIANA *et al.*, 1992). O objetivo principal do teste de tetrazólio é determinar rapidamente a viabilidade das sementes, particularmente das espécies cujas sementes germinam lentamente nos testes padrão de germinação ou que não germinam por se encontrarem dormentes (BRASIL, 1992).

SILVA, A. da & AGUIAR, I. B. de. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de canela-preta (*Ocotea catharinensis* Mez-Lauraceae), pela cultura *in vitro* de eixos embrionários e pelo teste de tetrazólio.

O teste bioquímico de tetrazólio é caracterizado pela redução de um indicador, uma solução incolor e difusível preparada com o sal 2, 3, 5 trifenil cloreto ou brometo de tetrazólio, a qual é absorvida pela semente (BRASIL, 1992). A velocidade de reação do sal de tetrazólio, segundo AMARAL (1986), é afetada por fatores como tratamento prévio das sementes (umedecimento), temperatura, pH, concentração da solução e período de imersão das sementes na solução.

KUHN & JERCHEL (1941) descobriram que os sais de tetrazólio eram reduzidos, no tecido vivo, de formas incolores e solúveis para formazans coloridos e insolúveis. Essa substância confere a coloração avermelhada aos tecidos vivos da semente, enquanto que os tecidos mortos, sem respiração, não se colorem (PIÑA-RODRIGUES & VALENTINI, 1995). Assim, o teste de tetrazólio detecta as sementes viáveis existentes no lote, ou seja, a viabilidade e não a germinabilidade das sementes.

PIÑA-RODRIGUES & SANTOS (1988) haviam relatado que o teste de tetrazólio ainda não era muito difundido para as espécies florestais nativas, embora apresentasse excelentes condições de uso, uma vez que sementes de muitas espécies necessitam de longo período para germinar. Um dos poucos trabalhos publicados foi aquele realizado por REIS & RENA (1987), com sementes de *Pterodon pubescens*, no qual foram obtidos 95% de germinação dos eixos embrionários isolados e 85% de viabilidade. Os autores concluíram que essa diferença foi devida, provavelmente, à pouca penetração da solução de tetrazólio na semente, mesmo após o corte do tegumento.

Mais recentemente, pesquisas com sementes florestais nativas aplicando o teste de tetrazólio vêm sendo realizadas com maior frequência, como as de *Carapa procera* (FERRAZ *et al.*, 1991), *Hevea brasiliensis* (WETZEL *et al.*, 1992), *Peltophorum dubium* (BOTELHO *et al.*, 1995) e *Platycomium regnellii* (DAVIDE *et al.*, 1995). Avaliando a viabilidade, a germinabilidade e a sanidade das sementes de seis espécies florestais nativas, MARTINS NETTO & FAIAD (1995) verificaram que os resultados do teste de tetrazólio apresentaram valores semelhantes aos do teste de germinação para *Aspidosperma* sp., *Astronium fraxinifolium* e *Astronium urundeuva*, enquanto

que as sementes de *Virola sebifera*, *Didymopanax morototoni* e *Terminalia fagifolia* não germinaram, apesar de terem apresentado 8%, 68% e 79% de viabilidade, respectivamente.

PIÑA-RODRIGUES & VALENTINI (1995) apresentaram instruções gerais para a instalação do teste de tetrazólio em sementes de algumas espécies florestais nativas e exóticas, bem como esquema representativo da avaliação do teste para sementes de *Manilkara salzmanii*, de *Virola surinamensis* e de três variedades de *Pinus caribaea*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Colheita, Extração e Armazenamento dos Frutos

Frutos maduros de *Ocotea catharinensis*, apresentando coloração verde-amarela com manchas pretas intensas, foram colhidos em área de Mata Atlântica, no Parque Estadual da Cantareira, do Instituto Florestal de São Paulo, município de São Paulo, à altitude média de 776 m, entre as latitudes de 23° 21' e 23° 27' S e entre as longitudes de 46° 29' e 46° 42' W.

Após a colheita, os lotes foram mantidos à sombra durante quatro dias, para facilitar a extração da cúpula que fica aderida aos frutos. O teor de água dos frutos foi determinado pelo método de estufa a 105°C, prescrito para sementes nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), utilizando duas amostras de 50 frutos.

Os frutos utilizados no experimento de desenvolvimento *in vitro* de eixos embrionários foram colhidos com teor de água de 47%, em 07 de junho de 1988, e armazenados em câmara fria (5°C e 90% UR), por cinco dias, na Seção de Silvicultura do Instituto Florestal-SP. Os frutos utilizados no teste bioquímico de viabilidade foram colhidos com teor de água de 50,3%, em 01 de agosto de 1994, e armazenados em câmara fria (9°C e 80% UR), por seis dias, no Departamento de Fitotecnia da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal-SP. Os frutos de ambos experimentos foram acondicionados em embalagem impermeável, constituída de camadas de papel, polietileno, alumínio e polietileno, com as espessuras de 40-20-9-20µ, respectivamente e termosoldados.

3.2 Desenvolvimento *in vitro* de Eixos Embrionários

Inicialmente os frutos foram desinfestados com hipoclorito de sódio a 15% por 30 minutos, seguido de álcool a 70% por dois minutos e lavados em água esterilizada por três vezes. A seguir, em condições assépticas, numa capela de fluxo laminar de ar estéril, procedeu-se à excisão do eixo embrionário de cada fruto, com o uso de bisturi e estilete.

Os eixos embrionários foram colocados em meio de cultura com e sem a adição de carvão ativado, na presença e ausência de luz, os quais foram inoculados em placas de Petri vedadas com parafilme, contendo cerca de 20 ml de cada meio de cultura. Nas parcelas referentes à condição de luz, os eixos embrionários foram colocados em placa de Petri transparente e avaliados sob iluminação normal de laboratório. Nas parcelas referentes à ausência de luz, os eixos embrionários foram instalados em placa de Petri envolvida em papel alumínio, em câmara iluminada com lanterna elétrica provida de filtro de segurança verde, onde foram posteriormente avaliados. Este filtro consta de uma camada líquida de dois cm de espessura de solução aquosa saturada de CuCl_2 que, segundo Laboriau *et al.* (1968), citados por HANDRO (1968), permite a passagem apenas da radiação de comprimento de onda entre 500 e 560 nm.

O meio de cultura, constituído pelos sais de LINSMAIER & SKOOG (1965) mais sacarose (30 g/l) e agar (7 g/l), foi autoclavado a 1,5 atm a 121°C por 15 minutos. Para verificar possíveis efeitos do carvão ativado, foram adicionados 15 g/l desse produto. Em ambos os meios de cultura, o pH foi ajustado em 5,5.

Foram utilizadas quatro repetições com 15 eixos embrionários, em placas de Petri a 27°C, na presença e na ausência de luz, em câmara B.O.D., no Laboratório de Biologia Celular de Plantas, do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. A luz foi fornecida por lâmpadas fluorescentes de 45 $\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ durante oito horas por dia.

Foram considerados germinados os eixos embrionários que emitiram a raiz primária e o ápice caulinar. As avaliações foram feitas em intervalos de cerca de sete dias, até o encerramento do ensaio que ocorreu aos 40 dias.

3.3 Teste Bioquímico de Viabilidade

As sementes foram extraídas dos frutos pela remoção do pericarpo, efetuada com bisturi, e colocadas em placas de Petri contendo água destilada, onde permaneceram cerca de cinco horas.

A viabilidade das sementes foi avaliada pelo teste de tetrazólio, baseado nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). A solução de tetrazólio foi preparada com o sal 2, 3, 5 trifenil cloreto, a qual é absorvida pela semente.

As sementes permaneceram embebidas em água destilada por cinco horas e a seguir os cotilédones de cada semente foram separados manualmente, no sentido longitudinal, para expor o eixo embrionário. Cada cotilédone, contendo parte do eixo embrionário, foi colocado em um recipiente contendo seis ml da solução de tetrazólio. Para fins de avaliação, foi utilizado apenas o cotilédone que continha maior porção do eixo embrionário. Por ocasião da separação dos cotilédones, quando o eixo embrionário permanecia em apenas um dos cotilédones, somente esse foi colocado na solução.

As sementes foram mantidas na solução de tetrazólio a 40°C, na ausência de luz, pelos períodos de uma e duas horas, nas concentrações de 0,1%, 0,3% e 0,5%. Para cada tratamento, foram utilizadas oito sementes. Após cada um dos períodos de imersão, as sementes foram retiradas da solução e imediatamente lavadas com água destilada.

Foram consideradas viáveis as sementes cujo eixo embrionário se coloriu completamente de vermelho brilhante. Embora o eixo embrionário da semente fosse parcialmente visível a olho nu, a avaliação da viabilidade foi efetuada em estereomicroscópio.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desenvolvimento *in vitro* de Eixos Embrionários

Os eixos embrionários começaram a se desenvolver a partir do 13º dia após a inoculação no meio de cultura, em todas as condições testadas. Verifica-se, pela TABELA 1, que total desenvolvimento foi obtido apenas na presença de luz, embora os valores obtidos na ausência de luz também tenham sido elevados.

SILVA, A. da & AGUIAR, I. B. de. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de canela-preta (*Ocotea catharinensis* Mez-Lauraceae), pela cultura *in vitro* de eixos embrionários e pelo teste de tetrazólio.

TABELA 1 - Porcentagem de desenvolvimento *in vitro* de eixos embrionários de canela-preta (*Ocotea catharinensis*), na presença e ausência de luz e de carvão ativado.

Meio de cultura	Porcentagem de desenvolvimento	
	Com luz	Sem luz
Meio de cultura sem carvão ativado	100	90,5
Meio de cultura com carvão ativado	100	96,5

Constata-se também, na TABELA 1, que o desenvolvimento dos eixos embrionários, na presença de luz, não foi afetado pela adição do carvão ativado que, segundo TEIXEIRA (s.d.), melhora a germinação e o desenvolvimento do sistema radicular.

Observações visuais permitiram constatar que, na ausência de luz, não ocorreu a formação do eixo radicular e as plântulas se mantiveram aclorofiladas e pouco desenvolvidas, morrendo aos 86 dias após a inoculação. Esse comportamento confirma a recomendação feita por TEIXEIRA (s.d.), de que o embrião isolado deve ser cultivado na presença de luz, onde o estiolamento é menor e a plântula resultante é mais vigorosa.

PÁSZTOR (1962/63) advertiu que um problema referente ao cultivo de embriões isolados é a dificuldade de excisão dos eixos embrionários, fato este não encontrado na extração dos eixos embrionários de *Ocotea catharinensis*, uma vez que a remoção do pericarpo facilitou o seu isolamento, sem lhes causar danificações.

Em *Araucaria angustifolia*, PÁSZTOR (1962/63) verificou que a extração foi mais fácil e causou menor dano ao embrião, quando os pinhões estavam secos; quando os pinhões foram previamente imersos em água, tanto inteiros como cortados lateralmente, o endosperma amoleceu muito e os embriões foram danificados pelo canivete. Contrariamente, REIS & RENA (1987) constataram que o corte do tegumento e a prévia embebição das sementes de *Pterodon pubescens* facilitaram o isolamento dos eixos embrionários. No caso de *Ocotea catharinensis*, após a colheita, os frutos

permaneceram na câmara fria por cinco dias e os eixos embrionários foram extraídos com facilidade.

Foi observado que os frutos de *Ocotea catharinensis* após 59 dias de armazenamento na câmara fria (5°C e 90% UR), se encontravam escuros e amolecidos, e que os eixos embrionários, ao serem extraídos, estavam deteriorados e intensamente infestados por fungos.

LORENZI (1992) relatou que, quando se deseja armazenar sementes de *Ocotea catharinensis*, previamente deve ser feito o despulpamento dos frutos em água corrente e a secagem à sombra. Mesmo assim, o autor ressaltou que a sua longevidade em condições naturais de ambiente é muito curta, não ultrapassando 30 dias.

Segundo KAGEYAMA & VIANA (1991), as sementes das espécies climax normalmente apresentam problemas de armazenamento, mesmo quando acondicionadas adequadamente. Quando as sementes dessas espécies são ricas em lipídios, elas possuem longevidade natural muito curta e são consideradas recalcitrantes. De acordo com os autores, as sementes recalcitrantes devem ser mantidas com elevado grau de umidade, porém, mesmo assim, a sua viabilidade é perdida em poucos meses.

Dessa maneira, torna-se necessário conduzir pesquisas para verificar o caráter recalcitrante das sementes de *Ocotea catharinensis*. Segundo Pritchard (1995), citado por MEDEIROS (1996), a criopreservação talvez seja a única opção viável para a conservação a longo prazo de sementes recalcitrantes, através do armazenamento de seus embriões.

SILVA, A. da & AGUIAR, I. B. de. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de canela-preta (*Ocotea catharinensis* Mez-Lauraceae), pela cultura *in vitro* de eixos embrionários e pelo teste de tetrazólio.

Considerando os resultados obtidos, a facilidade de extração dos eixos embrionários, o longo período de germinação e a curta longevidade das sementes, a cultura *in vitro* de eixos embrionários pode ser uma alternativa viável para avaliar com eficiência e rapidez a qualidade fisiológica das sementes de *Ocotea catharinensis*. Em apenas 40 dias obteve-se 100% de germinação dos eixos embrionários (TABELA 1), enquanto que no teste de germinação as sementes demoraram 81 dias para atingirem germinação total (SILVA, 1997). Deve-se salientar que, embora o experimento tenha se mantido por mais tempo para serem observadas eventuais anormalidades, a grande maioria dos eixos embrionários já haviam se desenvolvido entre a segunda e a terceira semana após a sua instalação.

4.2 Teste Bioquímico de Viabilidade

Embora seja prescrito pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), que o teste de tetrazólio seja realizado com duas amostras de 100 sementes ou quatro amostras de 50 sementes, o número de sementes utilizadas neste experimento foi inferior porque a produção de sementes de *Ocotea catharinensis* foi escassa. Considerando as condições homogêneas às quais as sementes são submetidas durante o teste, FRANÇA NETO (1994) sugere que ele seja realizado com menor número de sementes.

No caso das espécies florestais, FIGLIOLIA *et al.* (1993) ressaltaram que um dos problemas para a realização das análises de sementes se refere à amostragem, especialmente quando se trata de sementes grandes e de espécies cuja produção seja muito pequena, como é o caso de *Ocotea catharinensis* (SILVA, 1997).

A imersão das sementes de *Ocotea catharinensis* por uma e duas horas na solução de tetrazólio a 0,1% não foi suficiente para colorir adequadamente o embrião (FIGURA 1), impossibilitando a correta interpretação dos resultados e consequentemente a avaliação da viabilidade das sementes. Comportamento semelhante foi observado por WETZEL *et al.* (1992) para

sementes de *Hevea brasiliensis* mantidas por duas e três horas na solução a 0,1%, a 40°C. Entretanto, a permanência das sementes nessa concentração por duas horas a 25°C e por duas horas e trinta minutos a 35°C, foram os tratamentos cujos resultados de viabilidade mais se aproximaram aos da porcentagem de germinação obtida no laboratório e no viveiro, para sementes de *Peltophorum dubium* e *Platygyamus regnellii*, respectivamente (BOTELHO *et al.*, 1995 e DAVIDE *et al.*, 1995).

A imersão das sementes de *Ocotea catharinensis* na solução a 0,3% e a 0,5%, pelo período de uma ou duas horas, permitiu constatar que todas as sementes submetidas ao teste estavam viáveis (TABELA 2). Contudo, os períodos de uma e duas horas a 0,3% e de uma hora a 0,5% foram suficientes para colorir adequadamente os embriões, como pode ser observado na FIGURA 1.

A melhor concentração da solução de tetrazólio para a interpretação da viabilidade das sementes de *Hevea brasiliensis* também foi a de 0,5%, como verificaram WETZEL *et al.* (1992). Os autores constataram que o período de duas horas de imersão foi suficiente quando as sementes tinham sido pré-embebidas por 18 horas, mas quando o período de pré-embebição foi de seis horas, foram necessárias três horas de imersão na solução de tetrazólio.

Pode-se recomendar a pré-embebição por cinco horas e a imersão na solução de tetrazólio a 0,3% por uma hora, para avaliar a viabilidade das sementes de *Ocotea catharinensis*, pois estas condições foram tão eficientes quanto a adoção de maior concentração e período de imersão. A interpretação da viabilidade das sementes foi fácil e segura, principalmente pelo fato de apenas o embrião ficar colorido, como mostra a FIGURA 1.

Comparando os resultados de viabilidade (TABELA 2) com os de germinação (SILVA, 1997), pode-se concluir pela eficiência do teste de tetrazólio em substituição ao teste de germinação, para sementes de canela-preta. Em apenas um dia, foi possível ter uma estimativa segura da viabilidade das sementes.

SILVA, A. da & AGUIAR, I. B. de. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de canela-preta (*Ocotea catharinensis* Mez-Lauraceae), pela cultura *in vitro* de eixos embrionários e pelo teste de tetrazólio.

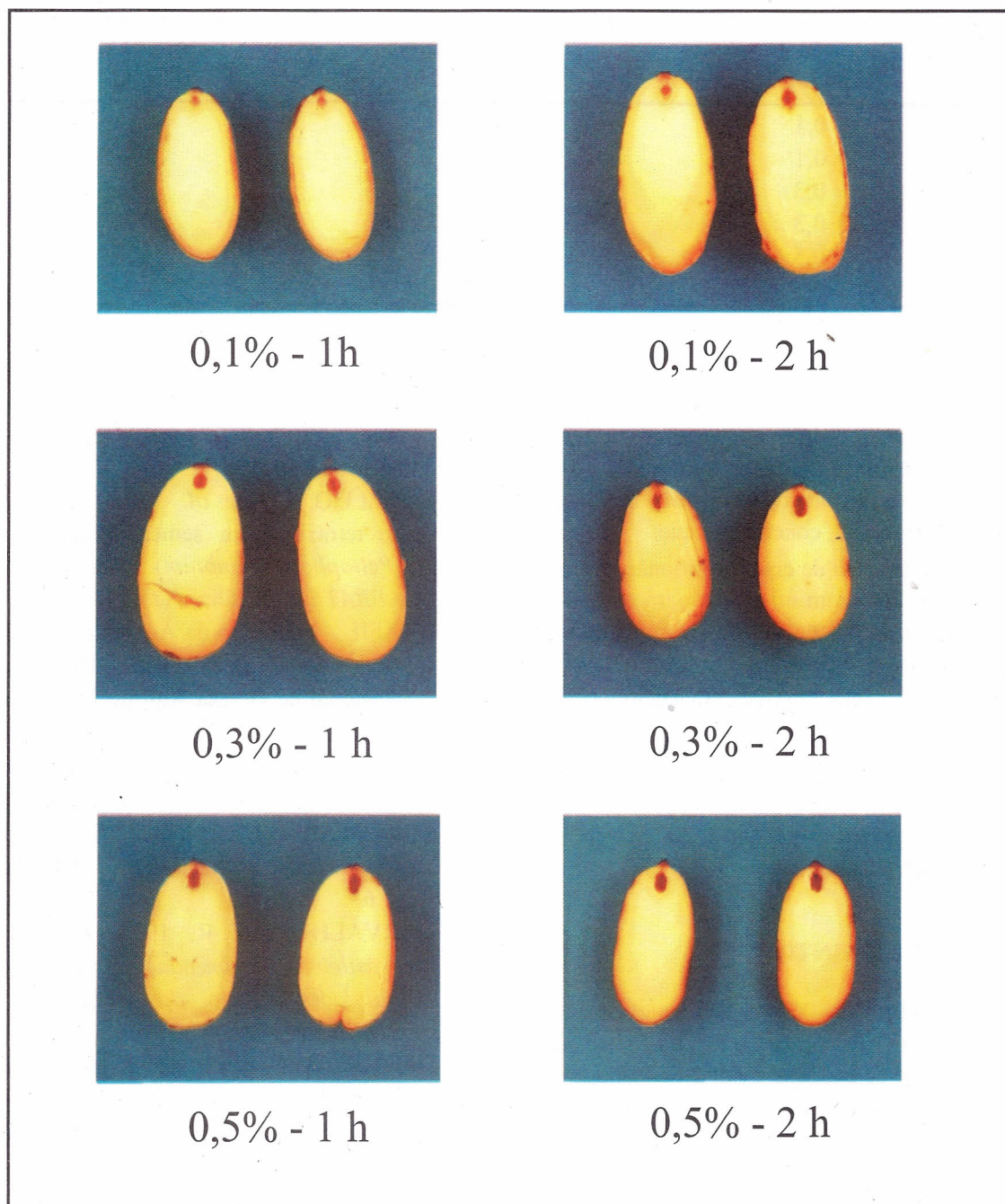


FIGURA 1 - Sementes de *Ocotea catharinensis* mantidas na solução de tetrazólio em diferentes concentrações e períodos de imersão.

SILVA, A. da & AGUIAR, I. B. de. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de canela-preta (*Ocotea catharinensis* Mez-Lauraceae), pela cultura *in vitro* de eixos embrionários e pelo teste de tetrazólio.

TABELA 2 - Porcentagem de sementes viáveis de canela-preta (*Ocotea catharinensis*) detectadas no teste bioquímico de viabilidade, nas diferentes concentrações e períodos de imersão na solução de tetrazólio.

Concentração da solução (%)	Período de imersão (h)	Sementes viáveis (%)
0,1	1	-
0,1	2	-
0,3	1	100
0,3	2	100
0,5	1	100
0,5	2	100

5 CONCLUSÕES

Pelos dados de desenvolvimento *in vitro* de eixos embrionários e pelo teste de tetrazólio obtidos com sementes de *Ocotea catharinensis*, nas condições do presente trabalho, concluiu-se que:

1. a cultura *in vitro* de eixos embrionários e o teste de tetrazólio foram eficientes para avaliar rapidamente a qualidade fisiológica das sementes de *Ocotea catharinensis*;
2. na cultura *in vitro*, o carvão ativado não favoreceu o desenvolvimento dos eixos embrionários e a luz favoreceu o desenvolvimento das plântulas, e
3. a imersão por uma hora na solução de tetrazólio a 0,3% permitiu adequada interpretação da viabilidade das sementes.

6 AGRADECIMENTO

Ao Prof. Dr. Walter Handro, do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, pela cessão do Laboratório de Biologia Celular de Plantas e pelas sugestões referentes à cultura de eixos embrionários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, D. M. I. 1986. Padronização de testes em laboratório com sementes florestais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 1, Belo Horizonte-MG, dez. 4-12, 1984. *Anais...* Brasília, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. p. 267-283.

BAITELLO, J. B. 1992. *Ocotea catharinensis*. In: *Centuria plantarum brasiliensium exstintions miniatata*. Rio de Janeiro, Sociedade Botânica do Brasil. p. 167.

BOTELHO, S. A. *et al.* 1995. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de angico-amarelo (*Peltophorum dubium*) (Spreng.) Taub). *Inf. ABRATES*, Brasília, 5(2):172.

BRASIL. Ministério da Agricultura. 1992. *Regras para análise de sementes*. Brasília, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, Coordenação de Laboratório Vegetal. 365p.

CABRAL, I. C. 1986. Germinação de embriões de babaçu *in vitro*. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 5, Olinda-PE, nov. 23-28, 1986. *Resumos...* São Paulo, SBS. p. 68.

CARVALHO, P. E. R. 1994. *Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira*. Colombo, EMBRAPA/CNPQ. 369p.

DAVIDE, A. C. *et al.* 1995. Avaliação da viabilidade de sementes de pau-pereira (*Platycyamus regnellii* Benth). *Inf. ABRATES*, Brasília, 5(2):178.

FERRAZ, I. D. K.; LIMA, V. N. S. & COSTA, M. M. C. 1991. Testes de viabilidade em sementes de *Carapa procera* D.C. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 2, Atibaia-SP, out. 16-19, 1989. *Anais...* São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente, Instituto Florestal. p. 39.

SILVA, A. da & AGUIAR, I. B. de. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de canela-preta (*Ocotea catharinensis* Mez-Lauraceae), pela cultura *in vitro* de eixos embrionários e pelo teste de tetrazólio.

- FIGLIOLIA, M. B.; OLIVEIRA, E. C. & PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. 1993. Análise de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. & FIGLIOLIA, M. B. (coord.) *Sementes florestais tropicais*. Brasília, ABRATES. p. 137-174.
- FRANÇA NETTO, J. B. 1994. O teste de tetrazólio em sementes de soja. In: VIEIRA, R. D. & CARVALHO, N. M. *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal, FUNEP. p. 87-102.
- HANDRO, W. 1968. *Contribuição ao estudo da unidade de dispersão e da plântula de Andira humilis Mart. ex Benth. (Leguminosae-Lotoideae)*. São Paulo, Universidade de São Paulo. 189p. (Tese de Doutorado)
- KAGEYAMA, P. Y. & VIANA, V. M. 1991. Tecnologia de sementes e grupos ecológicos de espécies arbóreas tropicais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 2, Atibaia-SP, out. 16-19, 1989. *Anais...* São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente, Instituto Florestal. p. 197-215.
- KUHN, R. & JERCHEL, D. 1941. Über invertseifen. VIII: Mitt, reduktion von tetrazoliumsalzen durch Bakterien, garende Hefe und Keimende Samen. *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, (74):949-952.
- LINSMAIER, E. M. & SKOOG, F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, Copenhagen, 18:100-127.
- LORENZI, H. 1992. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa, Editora Plantarum Ltda. 352p.
- MARTINS NETTO, D. A. M. & FAIAD, M. G. R. 1995. Viabilidade e sanidade de sementes de espécies florestais. *Rev. Bras. Sem.*, Brasília, 17(1):75-80.
- MEDEIROS, A. C. S. 1996. *Comportamento fisiológico, conservação de germoplasma a longo prazo e previsão de longevidade de sementes de aroeira (Astronium urundeuva) (Fr. All.) Engl.* Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 127p. (Tese de Doutorado)
- PÁSZTOR, Y. P. C. 1962/63. Teste abreviado de germinação em *Araucaria angustifolia* - embriões nus. *Silvic. S. Paulo*, São Paulo, 1(2):285-290.
- PIANA, Z.; TILLMANN, M. A. A. & SILVA, W. R. 1992. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes através de testes rápidos. *Inf. ABRATES*, Brasília, 3(1):37-46.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. & SANTOS, N. R. F. 1988. Teste de tetrazólio. In: PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. (coord.) *Manual de análise de sementes florestais*. Campinas, Fundação Cargill. p. 91-100.
- _____. & VALENTINI, S. R. T. 1995. Aplicação do teste de tetrazólio. In: SILVA, A. da; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. & FIGLIOLIA, M. B. (coord.) *Manual técnico de sementes florestais. IF Sér. Reg.*, São Paulo, (14):61-73.
- REIS, G. G. & RENA, A. B. 1987. Estudo sobre a dormência de sementes de sucupira (*Pterodon pubescens* Benth): viabilidade, perda e absorção de água, respiração e presença de inibidores. *Rev. Árvore*, Viçosa, 2(2):105-119.
- SILVA, A. da. 1997. *Padrão de florescimento e frutificação, caracterização de diásporos e germinação de sementes de canela-preta (Ocotea catharinensis Mez)*. Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 94p. (Dissertação de Mestrado)
- TEIXEIRA, J. B. s.d. *Excised embryo culture, in vitro techniques*. Brasília, EMBRAPA/CENARGEN. 3p. (datilografado)
- TORRES, A. C. & LACORTE, C. 1995. Cultura de embriões. *ABCTP Notícias*, Pelotas, (24):8-12.
- WETZEL, M. M. V. S.; CÍCERO, S. M. & FERREIRA, B. C. S. 1992. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de seringueira. *Rev. Bras. Sem.* Brasília, 14(1):83-88.