



Créditos: Sociedade Chauá

“ Informações sobre a germinação contribuem para o melhor entendimento da reprodução vegetal ”

Baskin and Baskin (1998).

Esse guia foi escrito por Santiago Velazco, Pablo Hoffmann, pela equipe da Sociedade Chauá¹

Traduzido por Valmir Campolino Lorenzi e pela equipe da Sociedade Chauá.



1. A Sociedade Chauá é uma instituição que trabalha para a conservação dos ecossistemas naturais e da biodiversidade no Paraná, Brasil: <http://www.sociedadechaua.org/>

Introdução

Diferentes espécies arbóreas precisam de condições diferenciadas para acelerar a germinação e o desenvolvimento. Então, o que devemos fazer quando tentamos e falhamos (ou não sabemos como) ao cultivar mudas de uma espécie? Uma opção é levar em consideração seu próprio conhecimento com experimentos informais para testar quais fatores podem afetar e melhorar a germinação. A proposta desse guia é fornecer auxílio em como proceder com estes experimentos, analisar e usar os dados coletados.

Para quem é esse guia?

Esse guia é destinado a pessoas que desejam desenvolver pesquisas com germinação e propagação de espécies arbóreas raras ou ameaçadas. Devido às técnicas descritas aqui serem um pouco mais avançadas que as mostradas em outros guias, nós recomendamos que a equipe possua algum tipo de experiência ou treinamento em produção de mudas antes de realizar os experimentos.

A Global Trees Campaign é uma parceria entre:



Copyright 2017 Global Trees Campaign.

Este documento foi produzido pela Fauna & Flora International (FFI) como contribuição para a o Global Trees Campaign

www.globaltrees.org

twitter.com/globaltrees

www.facebook.com/globaltrees

Antes de começar

Testes de germinação são experimentos que permitem reconhecer: (a) quais **condições** conduzem a uma maior porcentagem de germinação e (b) **quantos dias, semanas ou meses** a semente leva para germinar. À longo prazo, esta informação pode economizar uma enorme quantidade de tempo e esforço no viveiro e, em última instância, lhe permite cultivar mudas de melhor qualidade e em maior quantidade.

No entanto, a curto prazo, testes de germinação podem consumir um bom tempo na coleta de dados. Para ter certeza que sua equipe esteja bem preparada, nós recomendamos que você se familiarize com os procedimentos gerais de cultivo a partir de sementes (veja o [Guia GTC 7](#)). Desta forma, antes de começarmos: (1) pesquise sobre a biologia da espécie alvo, (2) garanta que a equipe possua as habilidades necessárias, (3) monte uma estrutura com os equipamentos necessários e (4) adquira uma fonte de sementes confiável.

PASSO 1: Conheça sua espécie alvo com antecedência

A) Verificar se já existem protocolos sobre a propagação da espécie

Outros pesquisadores já podem ter desenvolvido protocolos para as suas espécies alvo (ou para espécies muito próximas). Você pode acessá-los por: (i) busca na base de dados de sementes de Kew: <http://data.kew.org/sid/> ou outro recurso on-line, (ii) revisando a literatura, (iii) visitando jardins botânicos ou bancos de sementes ou (iv) consultando alguém que saiba cultivar ou já utiliza esta espécie.

Mesmo que já existam protocolos para a sua espécie, você pode ainda querer levar adiante seus próprios experimentos. É importante reconhecer quais são as melhores condições específicas necessárias para as sementes coletadas na sua localidade.

B) Entenda a ecologia da espécie

Informações gerais sobre a biologia das suas espécies alvo podem ajudar a esclarecer questões relevantes para a sua germinação. Abaixo listamos alguns fatores para serem considerados na busca de literatura.

Qual clima a espécie tolera tipicamente?

Isto deve indicar a temperatura ou a umidade ideal para quebrar a dormência ou iniciar a germinação.

Qual o habitat e a tipologia de solo que ela costuma crescer?

Isto deve indicar o tipo de substrato ideal para a espécie. Por exemplo, muitas espécies de árvores, precisam de certos fungos ou bactérias presentes no solo para germinar.

A qual grupo ecológico a espécie pertence (ex.: é uma espécie pioneira, secundária ou climácica)?

Isto deve indicar o nível ideal de luminosidade (ex.: espécies pioneiras tenderão a suportar a insolação direta, enquanto as climácicas e secundárias possivelmente exigirão ou irão tolerar a sombra).

As sementes das suas espécies possuem dormência, caso sim, como se quebra?

Isto deve indicar se as sementes precisam de algum tratamento antes de germinarem.

As sementes são recalcitrantes (possuem baixa tolerância ao armazenamento) ou ortodoxas (possuem alta tolerância ao armazenamento)?

Isto deve informar o tempo e duração potencial de seu experimento.

PASSO 2: Conheça sua equipe

Os procedimentos explicados neste guia, são mais complexos que os descritos no [Guia GTC 7](#). Como garantia, esteja certo de que pelo menos uma pessoa da equipe tenha habilidades com **produção de mudas** bem desenvolvidas e pelo menos um membro esteja familiarizado com **estatística e análise de dados**.

O processo como um todo exige coleta e entrada de dados regulares, então certifique-se que sua equipe esteja ciente da atividade, que cada membro dela seja bem organizado e possua boa habilidade no manejo do tempo.

PASSO 3: Implementando a estrutura e adquirindo os equipamentos

Estrutura

Testes de germinação básicos podem ser realizados em uma estufa ou viveiro.

Para testes mais complexos envolvendo um controle mais preciso de temperatura, umidade e fotoperíodo, você precisará de um laboratório e uma câmara de germinação.

Equipamentos básicos e recursos úteis para todos os testes de germinação

- Bandejas de sementeira (ex.: bandejas de plástico para cimento)
- Substrato
- Manta de solo, tela maleável ou sombrite para cobrir as sementes
- Estrutura para sombreamento (ex.: sombrite, folhas de palmeiras, bambu, etc.) para testes de luminosidade
- Regadores
- Etiquetas, lápis, canetas e corretivo
- Cadernos e pranchetas
- Acesso a um computador ou smartphone para arquivar dados

Equipamentos adicionais/opcionais e recursos para testar condições específicas

- Estilete, facas ou uma betoneira para testar os efeitos da escarificação de sementes
- Ácidos e outros compostos químicos (**manuseados com cuidado!**) para testar diferentes tratamentos pré-germinativos
- Chaleira e termômetro para testar o efeito germinativo das sementes submetidas ao tratamento em água em temperatura elevada
- Diferentes substratos (ex.: areia, vermiculita, papel)
- Câmaras de germinação simples para testar diferentes temperaturas
- Câmaras de germinação sofisticadas para testar diferentes temperaturas, intensidades de luz, fotoperíodo e umidade

PASSO 4: Adquirir uma fonte de sementes para a continuidade dos testes

Finalmente tenha certeza de que você possui uma fonte confiável de sementes (veja [Guia GTC 5](#) para orientações sobre coleta de sementes). Para seus experimentos use sempre sementes da mesma procedência (mesma localização das árvores matrizes) para ter certeza de que a fonte de sementes não influenciará nos resultados.

As sementes também devem ser beneficiadas antes dos testes (veja [Guia GTC 6](#) para orientações de como fazer isto).

Delineando o experimento

Vários fatores podem influenciar na germinação de sua espécie alvo, por exemplo:

(1) Características físicas das sementes

- Estágio de maturação dos frutos e sementes
- Teor de umidade da semente
- Tamanho e forma das sementes

(2) Procedimentos para ajudar a quebrar a dormência de sementes

- Escarificação (remoção do tegumento)
- Imersão em água quente ou fria
- Tratamento químico
- Tratamento térmico (congelamento ou aquecimento)

(3) Fatores ambientais

- Condição de luz (natural, artificial, sombra ou ausência de luz)
- Fotoperíodo (relação entre horas de dia e noite)
- Temperatura
- Níveis de umidade (ajustado dentro de câmaras de germinação)
- Substrato (areia, vermiculita, papel, solo e presença de fungos ou bactérias específicos)
- Profundidade no substrato (algumas espécies só germinarão sobre ou sob o substrato)

Para seu experimento, **selecione um ou dois desses fatores (denominados como “tratamentos”)** para testar nas suas espécies alvo. Você deve selecionar tratamentos baseados na sua pesquisa no passo 1 (a forma como as espécies crescem e se reproduzem na natureza deve orientar sobre como seria a germinação no viveiro) ou fazendo ajustes nas suas tentativas prévias de germinar esta espécie.

Você pode comparar como diferentes tratamentos afetam a germinação. Por exemplo: testando diferentes métodos utilizados para quebrar a dormência.

Tratamento 1 (T1)	Tratamento 2 (T2)	Tratamento 3 (T3)
Imersão em água fria	Imersão em água quente	Escarificação

Em outros casos você pode comparar diferentes **níveis** de um tratamento. Por exemplo: testando o efeito de diferentes temperaturas na germinação.

Tratamento 1 (T1)	Tratamento 2 (T2)	Tratamento 3 (T3)
18 °C	22 °C	26 °C

Em experimentos mais complexos, você pode testar muitos fatores diferentes (e como eles interagem) ao mesmo tempo. Por exemplo: testando o efeito de diferentes níveis de luz e os efeitos de diferentes substratos na germinação. Neste caso, você acabaria com 6 tratamentos.

Em qualquer caso, recomendamos manter seu experimento o mais simples possível. Quanto mais tratamentos forem utilizados, mais recursos deverão ser dispendidos e, mais complexa será a coleta e a análise dos dados.

		Luz	
		Natural	Ausência
Substrato	Papel	Tratamento 1 (T1)	Tratamento 2 (T2)
	Vermiculita	Tratamento 3 (T3)	Tratamento 4 (T4)
	Areia	Tratamento 5 (T5)	Tratamento 6 (T6)

Padronização do método, repetição e controle

Cada indivíduo produz sementes que variam em tamanho, estrutura e viabilidade. Dentro de um mesmo lote de sementes algumas irão germinar e outras não, isso independentemente dos tratamentos aplicados no experimento.

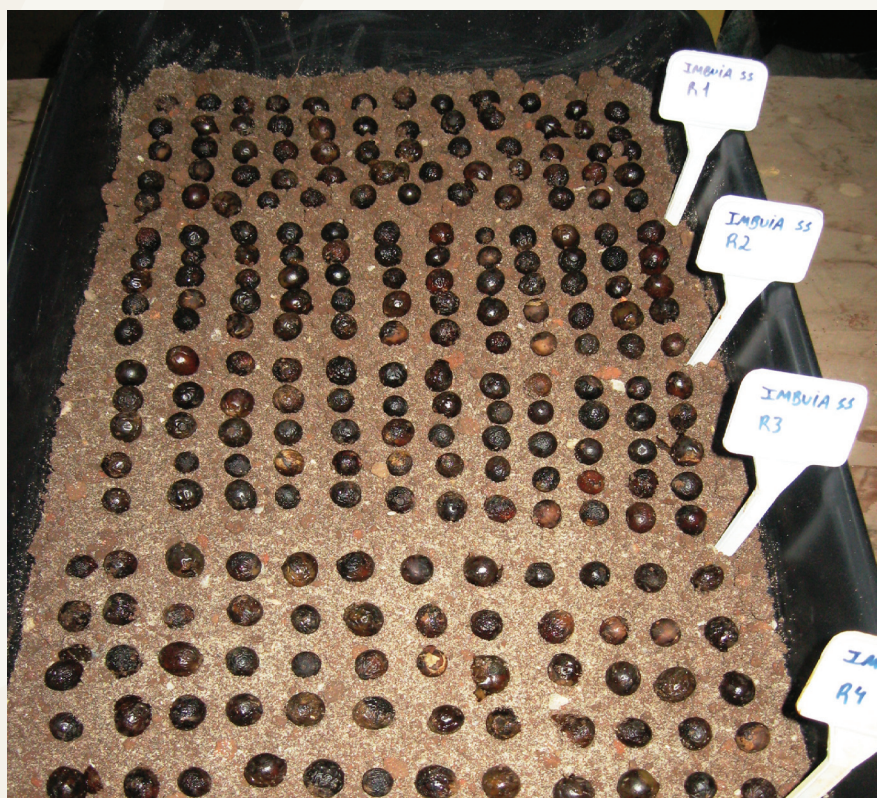
Esta variação pode causar problemas em seus experimentos. Por exemplo, ao comparar a porcentagem de germinação de dois experimentos (ex.: diferentes temperaturas), **como você pode ter certeza** que as diferenças são realmente devido à temperatura e não só pelo acaso (ex.: se as sementes usadas no tratamento 2 estavam mais danificadas)?

Padronização de métodos, **repetição** e uso de **controles** são três métodos utilizados para contornar este problema.

Se, por exemplo, você estiver comparando o efeito de diferentes temperaturas na germinação de sementes, **tenha certeza que todos os outros fatores que podem influenciar o resultado estejam padronizados** (estejam iguais para cada tratamento). Isso envolve usar o mesmo tipo de sementes para cada tratamento (ex.: mesma procedência e evitando sementes danificadas) e garantindo que os outros fatores (nesse caso: luz, água e substrato) são exatamente iguais para cada tratamento.

Repetição de tratamentos reduz a chance de que seus resultados sejam influenciados por algum fator desconhecido (ex.: baixa germinação natural de uma porcentagem de um lote de sementes). Tente repetir cada tratamento pelo menos quatro vezes (ou mais se possuir sementes e recursos suficientes). O resultado final será a média entre as repetições (reduzindo a chance de que resultados atípicos de uma repetição influenciem os resultados gerais do tratamento).

Finalmente, inclua **grupos de controle (testemunha/referência)** dentro de seus experimentos como meios de verificar quais os efeitos observados são realmente frutos da diferença entre os tratamentos. O grupo de controle não deve ter tratamentos, permitindo que você compare as porcentagens de germinação dos tratamentos com as que ocorreriam sem o uso de nenhum tratamento.



Neste experimento, um tratamento destinado a Imbuia (*Ocotea porosa*) é replicado quatro vezes, melhorando a confiabilidade dos resultados. Créditos: Sociedade Chauá

Pré-tratamento	Luz	Tratamento	Repetições	Sementes por repetição	Total de sementes por tratamento
Imersão em água fria	Natural	T1	4	50	200
	Sem	T2	4	50	200
Imersão em água quente	Natural	T3	4	50	200
	Sem	T4	4	50	200
Nada (Controle)	Natural	T5	4	50	200
	Sem	T6	4	50	200
Total		6	24	300	1200

Implementando seu experimento

Depois que você selecionou o seu desenho amostral (descrevendo o número de tratamentos, repetições e sementes por repetição que você deseja usar), você está pronto para iniciar o seu primeiro experimento.

Prepare uma bandeja de germinação para cada tratamento, colocando uma única semente por compartimento. Caso esteja semeando em substrato, não as semeie muito fundo – você precisará observar cada semente conforme ela germinar. Caso o experimento seja realizado em viveiro, você deve cobrir as bandejas com um pedaço de manta de solo, tela ou sombrite para proteger as sementes do ataque de animais.

Depois, agrupe as bandejas de cada tratamento juntas formando um bloco de seu experimento, então repita o bloco o número de vezes desejado (lembre-se de etiquetar cada bloco, tratamento e repetição).

Repetições	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4
Bloco 1	50 sementes	50 sementes	50 sementes	50 sementes
Bloco 2	50 sementes	50 sementes	50 sementes	50 sementes
Bloco 3	50 sementes	50 sementes	50 sementes	50 sementes
Bloco 4	50 sementes	50 sementes	50 sementes	50 sementes



Coleta de dados – O que estamos medindo?

A coleta típica de dados consiste em avaliar todas as bandejas pelo menos uma vez por semana (ou mais frequentemente, caso a semente germine rápido). Isso lhe permitirá medir: **1) o número total de sementes** que germinaram, falharam em germinar ou foram atacadas por patógenos, fungos ou insetos no fim do teste **2) a velocidade** da germinação.

Prepare uma planilha para ser atualizada a cada avaliação. Em cada avaliação, use um corretivo ou uma caneta permanente para marcar um ponto na localização da semente germinada na tampa do compartimento (se houver) então escreva na planilha o total de sementes que germinaram.

Bloco 1				
Data	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4
15/09/2014	0	0	0	0
18/09/2014	1	0	0	0
21/09/2014	4	1	0	0
24/09/2014	7	2	0	1

Você também pode verificar o número de sementes que germinaram e morreram em seguida. Para isso, no fim do experimento, conte o número de pontos que não possuem plântulas.

Analizando os resultados

Depois de completar os experimentos, seu próximo passo será analisar os dados e apresentar os resultados à equipe envolvida. A forma mais simples de apresentar os resultados **para cada tratamento** é mostrar a porcentagem total de sementes que germinaram até o fim do experimento:

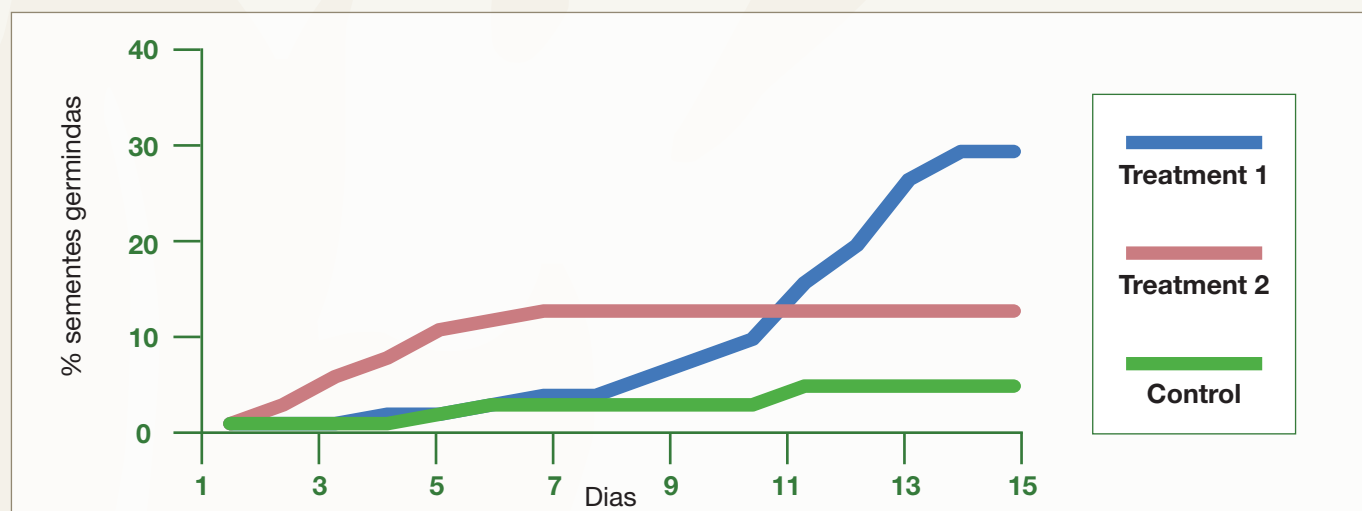
$$\text{Porcentagem de sementes germinadas} = \frac{\text{(número de sementes germinadas)}}{\text{/(total de sementes semeadas)}} \times 100$$

No entanto, você pode **comparar os diferentes tratamentos** com alguma análise estatística básica. Isso ajudará a demonstrar o quão confiáveis são seus resultados.

Para tal, insira seus dados em um software (programa de computador), como o *Microsoft Excel* e calcule a média do número de sementes germinadas em cada tratamento. Então, utilizando de *softwares* estatísticos, compare a diferença entre todas as médias executando uma “análise de variância” (ANOVA). As diferenças entre as médias são estatisticamente significantes quando o resultado dos testes tiver um valor de $P < 0,05$. Caso você observe diferença significativa, confirme seus resultados executando uma comparação de pares entre as médias de cada tratamento e a do grupo de controle.

Germination curves and indices

Outra forma de representar os resultados dos testes de germinação é por meio da confecção da **Curva de germinação**. Esses gráficos mostram como as porcentagens de sementes germinadas nos diferentes tratamentos mudam ao longo do tempo (desde a data da semeadura até o fim do experimento).



Tempo e velocidade de germinação também podem ser representados por índices. Estes incluem, mas não se limitam a: índice de velocidade de germinação, tempo médio de germinação e velocidade média de germinação (ver referências na página 8 para uma orientação de como calculá-los).

Usando as informações do teste de germinação

Comparando os resultados entre diferentes tratamentos, você pode otimizar as condições de germinação para as suas espécies alvo. Não esqueça de escrever seus métodos e resultados, para criar um protocolo de germinação. Este pode servir de base para sua equipe ou outros grupos no futuro!

Informações sobre o tempo e velocidade de germinação podem ser muito úteis. Caso você almeje plantar as mudas de suas espécies no seu habitat natural, isto deverá ser realizado na época certa do ano (ex.: frequentemente é o início da estação chuvosa). Caso você saiba o quanto de tempo precisará para (a) quebrar a dormência de sua espécie, (b) atingir bons níveis de germinação e (c) em quanto tempo as mudas atingirão tamanho e vigor suficientes para ir à campo, então você pode começar a planejar as melhores datas de semeadura para cada espécie.

Referências

Referências sobre: testes de germinação:

BBaskin, C. C. and Baskin, J. M. (2001). Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Elsevier. Disponível em: http://bit.ly/gtc_ref_8c

Elliot, S., Blakesley, D. and Hardwick, K. (2013). Restoring Tropical Forests: a practical guide, *Royal Botanic Gardens Kew*; 344pp. Disponível em: http://bit.ly/gtc_ref_7g

Referências sobre: avaliação de porcentagem de germinação:

Ranal, M.A. and Garcia de Santana, D. (2006). How and why to measure the germination process? *Revista Brasil. Bot.*, 29(1), 1-11. Disponível em: http://bit.ly/gtc_ref_8a

Referências sobre: comportamento da semente e quebra de dormência:

Millennium Seed Bank Resources: Disponível em: http://bit.ly/gtc_ref_8b

Willan R.L. (1987). A Guide to Forest Seed Handling, with Special Reference to the Tropics. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: http://bit.ly/gtc_ref_4d

Exemplos de testes de germinação:

Daws, M.I., Burslem, D.F.R.P., Crabtree, L.M, Kirkman. P., Mullins, C.E. and J.W. Dalling (2002). Differences in seed germination responses may promote coexistence of four sympatric *Piper* species, *Functional Ecology*, 16(2): 258-267. Disponível em: http://bit.ly/gtc_ref_8d

Exemplos de protocolos de germinação:

Kew's Seed Information Database: Disponível em: http://bit.ly/gtc_ref_6e

Román, F., De Liones, R., Sautu, A., Deago, J. and Hall, J.S. (2012). Guía para la Propagación de 120 Especies de Árboles Nativos de Panamá y el Neotropico. Environmental Leadership and Training Initiative – ELTI, Yale School of Forestry & Environmental Studies. Disponível em: http://bit.ly/gtc_ref_7a

Para mais informações ou para acessar outros guias desta série, visite nosso site:

www.globaltrees.org/resources/practical-guidance

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer ao Dan Luscombe (Bedgebury National Pinetum), Matt Parratt (Forest Research) e Tracie Evans (The Centre for Ecology & Hydrology) por suas contribuições neste guia.