



Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal

Departamento de Produção Vegetal
Licenciatura em Engenharia Agronómica

Projecto Final

Efeito da Germinação *Ex* e *In Vitro* de Sementes de Tindziva (*Dialium schlechteri* Harms) no Desenvolvimento Inicial das Plântulas.



Autor:

Hermenegildo Luís Alfredo

Supervisor:

Mestre Emanuel Salvador Malai, Eng^o

Co-Supervisores:

Doutora Melvis Vilanculos Cossa, PhD

Lic. Adelino Dias, Eng^o

Maputo, Outubro de 2025

DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, **Hermenegildo Luís Alfredo**, declaro por minha honra que este trabalho de culminação de curso de licenciatura em Engenharia Agronómica é da minha autoria, e nunca foi submetido nesta ou em outra instituição para aquisição de qualquer outro grau académico, e que ele constitui o resultado do meu trabalho individual e das orientações dos meus supervisores; o seu conteúdo é real e todas as fontes consultadas estão devidamente mencionadas no texto e na lista de referências.

Hermenegildo Luís Alfredo

Data: ____/____/2025

Por ser verdade, confirmo que o trabalho foi realizado pelo candidato sob minha supervisão.

Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal,
Universidade Eduardo Mondlane

Mestre Emanuel Salvador Malai, MSc

Data: ____/____/2025

Laboratório de Biotecnologia, Instituto de Investigação Agrária de Moçambique

Doutora Melvis Vilanculos Cossa, PhD

Data: ____/____/2025

Engenheiro Adelino Dias, Lic.

Data: ____/____/2025

Efeito da Germinação Ex e In Vitro de Sementes de Tinziva (*Dialium schlechteri* Harms) no Desenvolvimento Inicial das Plântulas.

Projecto Final submetido à Universidade Eduardo Mondlane, Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal (Departamento de Produção Vegetal) em cumprimento dos requisitos exigidos para obtenção do grau académico de Licenciado em Engenharia Agronómica, sob supervisão do Mestre Emanuel Malai, Dra. Melvis Cossa e Engº Adelino Dias.

DEDICATÓRIA

À Deus, Fonte da Vida.

Aos meus pais: Luís Alfredo e Felipa Murio Alfredo dedico por todo amor, orações, apoio incondicional e esforço que fizeram para que chegasse até aqui. Sem eles nada seria.

Aos meus irmãos: Ruth, Cristina e Hugo pelo suporte e compreensão.

À minha querida avó Cristina Murio (In memoriam) sua presença será sempre lembrada com carinho, sou grato pelo amor incondicional, puxões de orelhas, ensinamentos e risadas:

“ Uri Kwenda Kukhoss Maputo,...Hewoni Hoye, Paida Moyo Kuyerera Kwewazungo”.

A todos, ofereço

"Leva tempo para alguém ser bem-sucedido, porque o êxito não é mais do que a recompensa natural pelo tempo gasto em fazer algo direito." (Joseph Ross)

“Seja forte e corajoso! Não fiques desanimado, nem tenha medo, porque eu, o Senhor, o seu Deus, estarei com você em qualquer lugar para onde for” Josué 1:9.

AGRADECIMENTOS

À DEUS pois só Ele é digno de toda HONRA e toda à GLÓRIA, por estar sempre ao meu lado, guiando-me, dando-me sabedoria e forças para enfrentar os dilemas da vida.

Aos meus pais, Luís Alfredo e Felipa Murio Alfredo, minha eterna gratidão por todo o apoio, amor, compreensão, paciência e presença, mesmo à distância, durante esses anos. Obrigado por fazerem o possível e o impossível para que esse sonho fosse real. Aos meus irmãos, Ruth, Cristina e Hugo sou grato pela irmandade e apoio. Cada abraço e afecto em nossos reencontros foram a minha força para continuar. Essa conquista também é a de vocês.

Agradeço a todos os docentes e técnicos da FAEF pelos valiosos ensinamentos partilhados, em especial para a MSc Maria Alberto, cuja contribuição foi marcante na área da Biotecnologia. Minha gratidão à Universidade Eduardo Mondlane pelo incentivo.

Aos meus supervisores, minha sincera gratidão à Dra. Melvis Cossa, MSc Emanuel Malai e Eng^o Adelino Dias pelos ensinamentos, apoio, colaboração, puxões de orelhas, confiança, orientação e por ter-me ofertado a oportunidade de vislumbrar este tema.

Ao Laboratório de Biotecnologia, ao Herbário e ao Banco de Germoplasma – IIAM, agradeço pela oportunidade de realizar este trabalho, pelo apoio, encorajamento e ensinamentos recebidos. Estendendo ao MSc Camilo, dr. Graça, dr. Agnaldo, MSc Inocência, dr. Adília, Tec. Fidélío, Eng^o Person e Eng^o Macia. À Dra. Annae Senkoro (Faculdade de Ciências) – UEM, agradeço por permitir a colaboração e a participação neste projecto.

Minha gratidão aos meus tios Paulo Malevo e Rosemary Jacoa (*in memoriam*, e aos filhos, pelo acolhimento, apoio e orações. Aos meus primos: Patrício Inoque e Alfredo Dias pelo apoio.

Aos meus amigos Dário Ncuna, Penina Mauze, Manuel Judite, Manuel Naene, João Essamo, Adelino Mortal, Abubacar Omar, Osvaldo Baite, Dircy Chemane, Racinda Benzane, Iúria Machiana, Erquício Muhai, Salvado Raisse, Benvindo, Letícia, sou grato pela amizade, apoio moral, companheirismo e encorajamento. A Dércio Cossa, pelo auxílio na análise estatística dos dados, e aos colegas da turma de 2018 e 2019 pela camaradagem e motivação.

Aos colegas da residência universitária R9-010 pelos “*Time Two & Simbioses*” e R6-020-Colombia, especialmente ao Miguel, Beto, grato pela irmandade e convívio. E a todos que, de forma directa ou indirecta, contribuíram para conduzir com êxito este trabalho.

MINHA GRATIDÃO

RESUMO

A Tindziva é uma espécie de grande importância na alimentação, carpintaria e medicina tradicional. No entanto, ela enfrenta desafios relacionados com técnicas para a sua propagação. Aliado a isto, muitas espécies da família Fabaceae, na qual a Tindziva é pertencente, têm a sua germinação limitada pela dormência física. Neste contexto, o presente estudo avaliou o efeito da germinação *ex* e *in vitro* de sementes de Tindziva no desenvolvimento inicial das plântulas. O experimento foi conduzido na Estufa (*ex vitro*) e no Laboratório de Biotecnologia (*in vitro*) do Instituto de Investigação Agrária de Moçambique, entre Julho a Agosto de 2024. No experimento *ex vitro*, as sementes foram submetidas a 7 tratamentos, que corresponde 6 tempos de escarificação com H_2SO_4 a 95% (5, 10, 15, 20, 25 e 30 min) e 1 controlo (sem escarificação). Foram utilizadas 80 sementes por tratamento, divididas em 4 repetições de 20 sementes cada. No experimento *in vitro*, as sementes tiveram o tegumento removido e foram incubadas em dois meios de cultura de tecidos (MS – *Murashige and Skoog* e WPM – *Woody Plant Medium*), tendo sido utilizadas 40 sementes por tratamento, em 4 repetições de 10 sementes cada. Os experimentos foram conduzidos seguindo um delineamento completamente casualizado (DCC) com a duração total de 45 dias (*ex vitro*) e 15 dias (*in vitro*). As variáveis avaliadas foram a duração, percentagem e velocidade de germinação, variáveis biométricas e taxa de sobrevivências das plântulas. Os resultados mostraram que a germinação *ex vitro* iniciou no 12º dia para os tempos 5, 20 e 30 min, com melhores índices de germinação nos tratamentos por 10 min (68%) e 20 min (74%). A germinação *in vitro* começou no 2º dia, atingindo 100% de germinação e velocidade de germinação de 3.8 em ambos meios MS e WPM. Por outro lado, na *ex vitro*, os tempos de 10 e 25 min apresentaram os melhores resultados de crescimento das plântulas, enquanto, *in vitro* resultou em desempenho similar tanto no meio MS quanto WPM. A correlação *ex vitro* mostrou fortes relações entre área foliar com o número de raízes e a altura da plântula, enquanto, na *in vitro* mostrou relações fortes entre todas variáveis. As melhores taxas de sobrevivência *ex vitro* foram observadas por 20 min (95%) e 10 min (96.3%), enquanto, na *in vitro* ambos os meios WPM e MS acima 95%. Dessa forma, foi possível demonstrar que através dos protocolos testados no presente estudo uma boa germinação de Tindziva.

Palavras-chaves: Tindziva, dormência física, escarificação química, meios de cultura.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Constituição de semente e o processo germinativo (protrusão radicular). Fonte: Hartmann <i>et al.</i> , 2011.....	7
Figura 2. Mapa da área de estudo (Instituto de Investigação Agrária de Moçambique). Fonte: Cena carta, 2024.....	15
Figura 3. Experimento I-Germinação <i>ex vitro</i> . (A) Selecção e contabilização de sementes; (B) Imersão de sementes em diferentes tempos no H ₂ SO ₄ ; (C-D) Preparação do substrato coco mix na estufa; (E-D) Sementeira.....	17
Figura 4. Experimento II-Germinação <i>in vitro</i> . (A) Escarificação de sementes; (B) Sementes antes e depois da escarificação; (C) Preparação de meio de cultura; (D) Desinfecção de sementes; (E) Remoção do tegumento e inoculação; (F) Sala de crescimento.	19
Figura 5. Germinação de semente de Tindziva e respectivas mensurações biométricas. (A) Emergência da semente e medição do comprimento da raiz principal <i>ex vitro</i> . (B) Protrusão da radícula e medição da altura da plântula <i>in vitro</i>	22
Figura 6. Percentagem de germinação <i>ex vitro</i> de sementes de Tinziva, expostas a diferentes tempos de tratamento com ácido sulfúrico. Medianas seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si (p <0.05) pelo teste de Dunn. As barras de erro representam o intervalo interquartil.....	26
Figura 7. Desenvolvimento inicial da germinação <i>ex vitro</i> de Tinziva após 45 dias, resultante de escarificação ao ácido sulfúrico: (A) T1-5min; (B) T2-10min; (C) T3-15min; (D) T4-20min; (E) T5-25min; (F) T6-30min.....	27
Figura 8. Índice de velocidade de germinação <i>ex vitro</i> de sementes de Tinziva, expostas a diferentes tempos de tratamento com ácido sulfúrico. Medianas seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si (p <0.05) pelo teste de Dunn. As barras de erro representam o intervalo interquartil.....	28
Figura 9. Estágios de desenvolvimento de sementes <i>in vitro</i> de Tinziva. Na ordem, protrusão da radícula (A), crescimento da radícula (B), emissão de cotilédones (C), abertura dos cotilédones (D), plântulas já com folhas modificadas (E). Legenda: ct - cotilédones; fm – folha modificadas; hp – hipocótilo; pf – primórdios foliar; rd - radícula; rp – raiz primária; ep – epicótilo.	30

Figura 10. Percentagem de germinação <i>in vitro</i> de semente de Tinziva inoculadas em diferentes meios de cultura. As médias não diferem estatisticamente ($p > 0.05$) pelo teste t Student.	31
Figura 11. Índices de velocidade de germinação <i>in vitro</i> de sementes de Tinziva inoculadas em diferentes meios de cultura. As médias não diferem estatisticamente ($p > 0.05$) pelo teste t Student.	33
Figura 12. Correlação entre as variáveis biométricas de germinação <i>ex vitro</i> (A) e <i>in vitro</i> (B): altura da plântula (HP), número de folhas (NF), área foliar (AF), número de raízes (NR) e comprimento de raiz (CR) de Tinziva.	37
Figura 13. Aspecto visual de estágios de desenvolvimento de plântulas <i>ex vitro</i> de Tinziva. Na ordem, desenvolvimento do hipocótilo e desprendimento do tegumento (A), emissão dos cotilédones (B), abertura dos cotilédones e emissão de folhas (C), plântulas já com folhas e raízes modificadas (D), planta desenvolvidas (E). Legenda: hp - Hipocótilo; ct - cotilédones; pf- Primórdios foliar; rp – Raiz principal; rs – Raízes secundárias; ep – Epicótilo.	39
Figura 14. Aspecto visual da germinação <i>in vitro</i> de Tinziva: Plântulas no meio MS (A); Plântulas no meio WPM (B); Plântulas já com folhas e raízes modificadas (C); Plantas aclimatizadas em substrato orgânico (Coco mix e Buskompost) (D).	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição de natureza, causa, mecanismos e métodos de superação de dormência	10
Tabela 2. Composição dos tratamentos de escarificação das sementes para a germinação <i>ex vitro</i>	16
Tabela 3. Classes de coeficiente de correlação de Pearson.....	23
Tabela 4. Duração do tempo de germinação <i>ex vitro</i>	24
Tabela 5. Efeito de diferentes tempos de escarificação de sementes de Tinziva com H ₂ SO ₄ e dos meios de cultivo no desenvolvimento de plântulas após 45 dias (<i>ex vitro</i>) e 15 dias (<i>in vitro</i>). ..	35

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Teste de Kruskal-Wallis de percentagem de germinação <i>ex vitro</i> de Tinziva	50
Anexo 2. Comparação de p-valor de percentagem de germinação <i>ex vitro</i> de Tinziva pelo teste de Dunn (0.05)	50
Anexo 3. Teste de Kruskal-Wallis do índice de velocidade de germinação <i>ex vitro</i> de Tinziva .	51
Anexo 4. Comparação de p-valor do índice de velocidade de germinação <i>ex vitro</i> de Tinziva pelo teste de Dunn (0.05)	51
Anexo 5. Teste de normalidade (Shapiro Wilks) de percentagem de germinação <i>in vitro</i> de Tinziva	51
Anexo 6. Teste de normalidade (Shapiro Wilks) de velocidade de germinação <i>in vitro</i> de Tinziva	52
Anexo 7. Teste de Homoskedasticidade (Levene) de percentagem de germinação <i>in vitro</i> de Tinziva	52
Anexo 8. Teste de Homoskedasticidade (Levene) de velocidade de germinação <i>in vitro</i> de Tinziva	52
Anexo 9. Teste <i>t Student</i> de percentagem de germinação <i>in vitro</i> de Tinziva.....	52
Anexo 10. Teste <i>t Student</i> de velocidade de germinação <i>in vitro</i> de Tinziva.....	52
Anexo 11. Ficha de recolha de dados diários de germinação <i>ex</i> e <i>in vitro</i> de Tinziva.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS/SIGLAS

%	Porcentagem
%G	Porcentagem de Germinação
°C	Graus Celcius
$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Micro molar por metros e segundos
Atm	Pressão Atmosférica
cm	Centímetros
DCC	Delineamento Completamente Casualizados
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agro-pecuária
FAEF	Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal
g	Gramas
g/L^{-1}	Gramas por Litros
IIAM	Instituto de Investigação Agraria de Moçambique
IVG	Índice de Velocidade de Germinação
min	Minutos
mL	Mililitros
MS	Meio de cultivo formulado por Murashige & Skoog (1962)
pH	Potencial de Hidrogénio
WPM	“ <i>Wood Plant Medium</i> ” Meio de plantas lenhosas formulado por Lloyd e McCown (1981)

ÍNDICE

DECLARAÇÃO DE HONRA.....	i
DEDICATÓRIA	iii
AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE ANEXOS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS/SIGLAS.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Contextualização.....	1
1.2. Problema de Estudo e Justificação.....	3
1.3. Objectivos	4
1.3.1. Objectivo geral.....	4
1.3.2. Objectivos específicos	4
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. Origem, Descrição Botânica e Importância da Tinziva.....	5
2.2. Germinação de sementes.....	6
2.3. Factores que influenciam na germinação de sementes	7
2.3.1. Factores externos	7
a) Água e Gases.....	8
b) Temperatura e Luz	8
c) Substrato	8
2.4. Dormência das sementes.....	9
2.4.1. Escarificação com ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄).....	10
2.5. Germinação de sementes <i>in vitro</i>	11
2.6. Meios de culturas no cultivo <i>in vitro</i>	13
2.7. Variáveis biométricas na propagação sexuada	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
3.1. Descrição do período e local de estudo.....	15
3.2. Colecta e preparação das sementes	15

3.3.	Escarificação e germinação (<i>ex</i> e <i>in vitro</i>) das sementes.....	16
3.3.1.	Experimento 1: Germinação <i>ex vitro</i> de sementes	16
	Delineamento experimental e tratamentos	16
a)	Escarificação e sementeira.....	17
3.3.2.	Experimento 2: Germinação <i>in vitro</i> de sementes.....	18
a)	Escarificação, desinfecção e incubação de sementes.....	18
3.4.	Procedimento de amostragem e colecta das variáveis do estudo.....	20
3.5.	Análise de dados	22
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1.	Experimento 1: Efeito da escarificação com ácido sulfúrico na germinação <i>ex vitro</i> de sementes de Tinziva	24
4.1.1.	Percentagem de germinação de sementes (%G)	25
4.1.2.	Índice de velocidade de germinação de sementes (IVG).....	28
4.2.	Experimento 2: Efeito do meio de cultivo na germinação <i>in vitro</i> de sementes de Tinziva	30
4.2.1.	Percentagem de germinação de sementes (%G)	31
4.2.2.	Índice de velocidade de germinação de sementes (IVG).....	32
4.3.	Efeito da escarificação de sementes de Tinziva com H ₂ SO ₄ (<i>ex vitro</i>) e dos meios de cultivo (<i>in vitro</i>) nas variáveis biométricas das plântulas	34
4.4.	Relação entre as variáveis biométricas das plântulas de Tinziva produzidas <i>ex</i> e <i>in vitro</i>	36
4.5.	Efeito da escarificação de sementes de Tinziva com H ₂ SO ₄ (<i>ex vitro</i>) e dos meios de cultivo (<i>in vitro</i>) no estabelecimento e sobrevivência das plântulas	38
5.	CONCLUSÕES	40
6.	RECOMENDAÇÕES.....	41
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
8.	ANEXOS	50

1. INTRODUÇÃO

1.1. Contextualização

A Tindziva (*Dialium schlechteri* (Harms)) é uma planta dicotiledónea pertencente à família Fabaceae, nativa das florestas de Moçambique e do leste da África do Sul, e amplamente utilizada na nutrição, medicina tradicional, carpintaria e como combustível lenhoso (Burrows *et al.*, 2018; Palgrave, 1983).

A Tindziva é uma nativa apreciada, que, como para muitas outras frutas nativas da África, ainda não foram desenvolvidas técnicas para a sua propagação, protecção, produção e processamento (Awodoyin *et al.*, 2015). Como resultado, essas fruteiras são exploradas quase exclusivamente em seus ambientes naturais, o que limita o aproveitamento do seu potencial de rendimento, qualidade e utilidade (Negash, 2021). A propagação natural dessas fruteiras nativas em seus ambientes de crescimento depende maioritariamente da dispersão das sementes botânicas, resultando em alta variabilidade genética, o que afecta as características da fruta e outros produtos proveniente da espécie. Contudo, a propagação sexual de espécies fruteiras é crucial para a produção de porta-enxertos, melhoramento genético e propagação da própria espécie (Hartmann *et al.*, 2013).

A germinação da semente é considerada um dos estágios mais críticos no desenvolvimento das plantas, envolvendo processos fisio-metabólicos complexos que activam o embrião e permitem a protrusão da radícula, exigindo condições químicas e físicas favoráveis para a germinação (Hartmann *et al.*, 2013). Muitas espécies de Fabaceae, família da qual Tindziva é pertencente, apresentam germinação limitada devido a vários factores como dormência física de sementes, que, embora seja uma condição adaptativa, é um obstáculo ao uso agronómico das sementes (Embrapa, 2012; Costa *et al.*, 2010).

Diversos métodos de quebra de dormência de sementes incluindo o químico, com o uso de substâncias como o ácido sulfúrico, têm sido amplamente estudados para superar essa barreira, promovendo o processo germinativo e garantindo a propagação das espécies (Baskin & Baskin, 2014). Além disso, a germinação *in vitro* (germinação em condições de laboratório, em meio de cultura estéril) apresenta-se como uma alternativa valiosa e eficiente para a propagação de espécies com baixa germinação *ex vitro* (germinação em condições naturais, fora do laboratório), pois, possibilita uma maior taxa e uniformidade da germinação, em menor período de tempo e

espaço (Carvalho *et al.*, 2012; George *et al.*, 2008). Contudo, as espécies vegetais podem responder de formas diferentes aos tratamentos para estimular a germinação e, por isso, conhecer as condições ideais de germinação é essencial para o sucesso na produção de mudas ou porta-enxertos, uma etapa fundamental para a viabilidade da fruticultura, em especial para a Tindziva (Chen *et al.*, 2007). Assim, torna-se crítico a realização de estudos com vista a identificar estratégias para melhorar o sucesso de germinação de sementes de espécies com problemas de dormência física como é o caso da Tindziva.

1.2. Problema de Estudo e Justificação

A flora Moçambicana é rica em espécies fruteiras nativas com grande potencial nutricional e socioeconómicas, tanto local quanto nacionalmente (Simone, 2001). Contudo, o conhecimento científico e técnico sobre propagação e gestão de viveiros dessas espécies são escassos, em particular a Tindziva (Awodoyin *et al.*, 2015), assim como acontece com o conhecimento sobre as oportunidades de negócio em novas cadeias que estas espécies apresentam. Como factor agravante, a transferência de conhecimento indígena tem sido negligenciada em programas de pesquisa e pouco valorizada socioeconomicamente (Santo-António & Goulão, 2015).

A maioria desses frutos nativos são colhidas em áreas naturais, pois as árvores nativas raramente são cultivadas em explorações agrícolas (Simitu *et al.*, 2009). Sendo que, a reprodução sexuada das árvores nativas é comum na produção comercial de mudas, garantindo a diversidade genética da espécie, obtenção de porta enxertos e permitindo estudos iniciais de exploração da espécie (Ferreira & Santos, 1997). No entanto, na família Fabaceae, na qual a Tindziva é pertencente, a dormência tegumentar é comum, constituindo um desafio para projectos florestais e uso agronómico das sementes, devido a atrasos, desuniformidade ou falhas na emergência das plântulas (Oliveira *et al.*, 2003). Entretanto, uma germinação rápida e uniforme, seguida pela imediata emergência das plântulas, é desejável, pois plântulas que demoram a emergir são mais vulneráveis a diversas condições ambientais (Martins *et al.*, 2009).

Neste contexto, o ácido sulfúrico vem sendo utilizado como alternativa eficaz para quebrar a dormência tegumentar e acelerar a germinação de sementes, com a sua eficiência dependente do tempo de exposição da semente ao ácido, concentração do ácido e da espécie propagada (Albuquerque *et al.*, 2007). Por exemplo, Neto *et al.* (2012) obtiveram níveis de germinação de 98 e 100%, na *Adenanthera pavonina* L. ao submeterem as sementes ao H_2SO_4 (98%) por 10 e 20 min, respectivamente. Por outro lado, Mota *et al.* (2018) obtiveram uma germinação 96% e 100% em sementes de *Enterolobium schomburgkii* Benth, imersas ao H_2SO_4 (95%) por 12 e 13 min, respectivamente, enquanto, Cipriani *et al.* (2019) obtiveram 86% e 89% de germinação em sementes de *Senna macranthera* (DC. ex Collad), imersas ao H_2SO_4 (98%) por 15 e 30 min, respectivamente. Com base nesses estudos de facto H_2SO_4 é eficaz de acordo com tempo para cada espécie. Por outro lado, tem-se também usado a propagação *in vitro* como uma possibilidade para obtenção de mudas, a qual garante uma produção de mudas em larga escala

com qualidade superior e em menos tempo e espaço (Paiva *et al.*, 2002; Moura *et al.*, 2012). Por exemplo, Pergolotti *et al.* (2023) obtiveram taxas de germinação de 73 – 78%, a partir do 4 dia do início de germinação na *Rubus idaeus L. in vitro*, do que 26% de germinação com o início da germinação após 1 mês, *in vivo*. Já Samanthi *et al.* (2013) obtiveram alta germinação (90-100%) na *H. cannabinus* Kenaf dentro de 2 a 3 dias. Enquanto, Bhattacharya & Khuspe (2001) obtiveram uma germinação de 96% durante 7 dias em diferentes variedades de *Carica papaya* na condição *in vitro*, do que na condição *ex vitro* com 68% de germinação, o que representa redução no tempo necessário para a germinação de sementes.

Portanto, ainda não foram registrados estudos similares para a Tindziva, no que diz respeito a escarificação com ácido sulfúrico e incubação a meios de cultura, tornando-se assim necessário preencher essa lacuna no conhecimento de estratégias que possam garantir o sucesso da germinação (*ex vitro* e *in vitro*) da semente de Tindziva. Assim, este estudo representa um passo inicial fundamental para integrar a Tindziva em programas de propagação, conservação e valorização de espécies nativas. Desta forma, o presente estudo propõe-se a investigar até que ponto o uso de H₂SO₄ de forma simples ou combinado com meios de cultura de tecidos podem assegurar o sucesso de produção de mudas de Tindziva um primeiro passo muito importante, para garantir o aproveitamento em pleno do potencial e utilidade agronômica e social desta espécie.

1.3. Objectivos

1.3.1. Objectivo geral

- Avaliar o efeito da germinação *ex* e *in vitro* de sementes de Tindziva (*Dialium schlechteri* Harms) no desenvolvimento inicial das plântulas.

1.3.2. Objectivos específicos

- Descrever o período de ocorrência da germinação *ex* e *in vitro* de sementes de Tindziva;
- Determinar a percentagem e o índice velocidade de germinação de sementes de Tindziva sob efeito de ácido sulfúrico (*ex vitro*) e meio de cultura MS e WPM (*in vitro*);
- Examinar a relação entre as variáveis biométricas (altura da plântula, área foliar, número de folhas e raízes e o comprimento da raiz) das plântulas de Tindziva produzidas *ex* e *in vitro*;
- Monitorar o estabelecimento e sobrevivência das mudas de Tindziva produzidas *ex* e *in vitro*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Origem, Descrição Botânica e Importância da Tinziva

A Tindziva (*Dialium schlechteri* Harms) é uma planta dicotiledónea, pertencente à família Fabaceae, subfamília Caesalpinioideae, género *Dialium* e espécie *Dialium schlechteri* (Burrows *et al.*, 2018). Esta espécie é nativa das florestas do Este da África do Sul (Kwazulu-Natal) e Sul de Moçambique (ao Sul do rio Save) (Palgrave, 2002). No entanto, a Tinziva apresenta nomes vernaculares que variam de uma zona para outra e mesmo dentro da mesma zona, a destacar: Tinziva, Enziva, Tintsiva, Insiba, Tsiba, Ziva (Ronga, Tsonga) e Zulo Podberry (Inglês) (Burrows *et al.*, 2018).

A Tindziva é uma árvore perene e caducifólia, de pequeno a médio porte (5-15 m), encontrada em florestas arenosas e costeiras. Geralmente, possui um caule ramificado com uma copa densa e arredondada e casca rachada longitudinalmente (Palgrave, 2002). A casca é de cor cinza clara, lisa e manchada. As folhas são verde, compostas, opostas, subpostas a alternadas, com 7-11 folíolos e um terminal e ficam amarelas antes de caírem (Burrows *et al.*, 2018; Van Wyk, 1997).

A floração ocorre de Setembro a Novembro e a frutificação de Dezembro a Junho (Palgrave, 2002). As flores são pequenas, dispostas em panículos terminais, com pétalas creme-esverdeadas, anteras amarelas e ovário castanho-chocolate. As flores atraem as abelhas favorecendo a polinização. Os frutos são redondos a ovais (10-20 mm de diâmetro), de cor castanho-escuro, minuciosamente aveludado, com casca fina e quebradiça. A semente está envolvida por um arilo seco de cor laranja brilhante (Burrows *et al.*, 2018). Os frutos costumam nascer em profusão a partir do outono (Palgrave, 2002). Esta árvore pode ser propagada a partir de sementes, no entanto, ela é sensível à geada e pode ser difícil de cultivar em áreas onde ocorrem frequentemente geadas de inverno (Palmer & Pitman, 1974).

Esta espécie tem várias aplicações. Os frutos são procurados pela população do sul de Moçambique e pelas crianças Zulos, pois o arilo comestível da polpa fina que envolve as sementes tem um agradável sabor ácido e é muito saboroso (Burrows *et al.*, 2018). A polpa é misturada com água ou com leite para fazer uma bebida refrescante (Palgrave, 2002). Os frutos são vendidos em mercados locais. E ainda, os zulos transformam a casca em pó e aplicam nas queimaduras (Palmer & Pitman, 1974). Além disso, a madeira tem uma boa superfície, cor avermelhada, dura, pesada e, é resistente há insectos (Palgrave, 2002).

2.2. Germinação de sementes

A palavra "semente" (originada do latim *seminilla*, diminutivo de *sémen*, que significa esperma) refere-se ao órgão que assegura a reprodução e a perpetuação da espécie vegetal. A semente pode ser definida como um óvulo maduro, contendo um eixo embrionário, reservas nutritivas e um envoltório protector chamado tegumento ou casca (Figura 1, Damião Filho & Môro, 2001). Neste sentido, a semente é a precursora da geração seguinte na vida de uma planta, garantindo a reprodução e a sobrevivência da espécie, destacando-se no estabelecimento, expansão, diversificação, desenvolvimento da agricultura e na alimentação (Silva, 2003).

O processo germinativo pode ser definido como uma sequência ordenada de actividades metabólicas que levam ao reinício do crescimento e desenvolvimento do embrião, resultando na formação de uma plântula (Silva, 2019). Fisiologicamente, a germinação começa com a embebição de água pela semente, seguida pela retomada do crescimento do embrião quiescente e finaliza com a protrusão da radícula através do tegumento (Vieira & Carvalho, 2023). De acordo com Hartmann *et al.* (2011) pode-se distinguir três fases neste processo de germinação:

- a) **Fase I – Reidratação/embebição de água pela semente:** A semente absorve uma grande quantidade de água, resultando em um aumento na actividade respiratória. Essa absorção se dá em função do gradiente de energia livre de água ($\Delta\psi_w$) estabelecido entre o potencial métrico da semente e o potencial de água do substrato.
- b) **Fase II – Germinação:** Há uma drástica redução na taxa de absorção de água, enquanto a digestão das reservas solúveis, difusíveis e simples, se intensifica em direcção aos pontos de crescimento do embrião, iniciando o processo de assimilação nas principais actividades celulares que incluem maturação mitocondrial, síntese de proteínas, metabolismo de reserva de armazenamento e activação de enzimas específicas.
- c) **Fase III – Crescimento:** Aqui ocorrem modificações morfológicas visíveis nas sementes, como o alongamento da radícula (protrusão da raiz primária, Figura 1). Tanto a respiração quanto a absorção de água pelas sementes volta a aumentar. Nesta fase ocorre a mobilização das reservas e um crescimento mais pronunciado, por isso, caracteriza-se por uma intolerância à dessecação e é irreversível, pois a semente origina uma nova plântula ou morrerá.

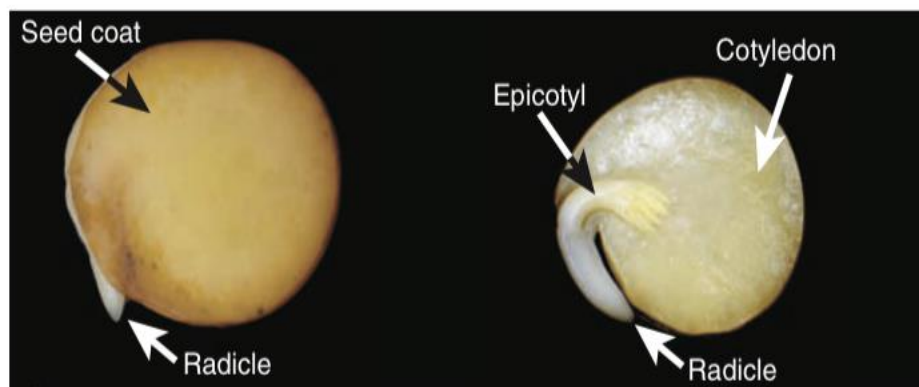


Figura 1. Constituição de semente e o processo germinativo (protrusão radicular). Fonte: Hartmann *et al.*, 2011.

2.3. Factores que influenciam na germinação de sementes

De acordo com a literatura (Embrapa, 2010; Lisboa, 2017 e Vieira & Carvalho, 2023) diversos factores podem influenciar o processo de germinação de sementes, os quais podem estar relacionados com factores internos da semente que incluem viabilidade, ausência de dormência, sanidade e vitalidade da semente, mas também por factores externos, tais como água, temperatura, luz, gases e o substrato. A interacção entre esses factores é determinante para o processo germinativo.

Para que germinação das sementes ocorra de forma bem-sucedida, é necessário que as sementes apresentem condições internas fundamentais. A viabilidade da semente é um dos principais factores, pois a semente quiescente deve ser viável, ou seja, deve ser capaz de germinar quando colocada em condições favoráveis. Outro aspecto importante é a ausência de dormência é essencial que a semente não esteja dormente, pois, embora vivas, uma semente dormente não pode germinar. A sanidade da semente também é essencial, uma vez que a presença de agentes patogénicos pode comprometer o processo germinativo e reduzir a taxa de emergência das plântulas. Além disso, a vitalidade da semente deve ser garantida, pois apenas sementes viva e sem dormência podem assegurar uma germinação bem-sucedida.

2.3.1. Factores externos

Entretanto, a germinação não depende apenas das características internas da semente, mas também de um conjunto de factores externos que condicionam o ambiente ao redor do embrião.

a) Água e Gases

A água desempenha um papel importante na reactivação das actividades metabólicas do embrião, principalmente no que diz respeito à respiração. O teor de água mínimo para a germinação depende da espécie, variando, geralmente, entre 40% e 60%, com base no peso da semente ainda fresca (Embrapa, 2010).

O oxigénio é essencial para as reacções oxidativas do processo respiratório. A presença de oxigénio é indispensável para que a germinação ocorra de maneira eficaz (Vieira & Carvalho, 2023). Diferentemente o CO₂, em concentrações elevadas pode impedir ou dificultar a germinação (Fachinello *et al.*, 2005).

b) Temperatura e Luz

A temperatura influencia especialmente por modificar as velocidades das reacções químicas que irão accionar a divisão, o transporte de reservas e a ressíntese de substâncias para a plântula (Pacheco Júnior, 2010). Para a maioria das espécies tropicais, a temperatura óptima de germinação encontra-se entre 15 e 30 °C e a máxima varia entre 35 e 40 °C (Machado *et al.*, 2002). No entanto, as espécies florestais, em especial as nativas pode variar em função da condição fisiológica da semente associada ao grupo ecológico ao qual a espécie pertence (Ferreira *et al.*, 2007).

A luz é um factor ecológico que regula a taxa germinativa, além de agir na superação de dormência induzida por pigmentos como o fitocromo (Bewley & Black, 1994). A luz influencia na germinação, pois a maioria das espécies é fotoblástica facultativa, o que significa que suas sementes podem germinar tanto na presença quanto na ausência de luz. Geralmente os factores luz e temperatura têm efeito interactivo sobre a germinação de sementes fotossensíveis (Nassif *et al.*, 1998).

c) Substrato

O substrato tem o papel de fornecer humidade às sementes e criar condições ideais para a germinação e o desenvolvimento das plântulas. No entanto, é essencial que o substrato equilibre a humidade e a aeração, evitando a formação de uma camada de água que possa impedir a entrada de oxigénio e favorecer patógenos (Alves *et al.*, 2015). Portanto, diversos materiais, como solo, areia branca, turfa, papel de filtro e papel absorvente, podem ser usados como substratos para testes de germinação, no entanto, o substrato não deve formar uma crosta na superfície, pois isso dificultaria a emergência das folhas (Lisboa, 2017).

2.4. Dormência das sementes

A dormência é uma condição em que algumas sementes não germinam mesmo quando expostas a condições ambientais favoráveis (Embrapa, 2012), embora seja um mecanismo benéfico para a sobrevivência da espécie na natureza, pois faz com que a germinação seja distribuída ao longo do tempo, bem como permite que ela somente ocorra quando as condições ambientais forem favoráveis para a germinação da semente (Borghetti & Ferreira (2004). Em contrapartida, é um problema na produção comercial de mudas, em que se deseja que grandes quantidades de sementes germinem em curto espaço de tempo e uniforme (Embrapa, 2010).

A dormência das sementes pode ser classificada de diferentes formas, de acordo com sua origem e os mecanismos fisiológicos envolvidos. Segundo Taiz *et al.* (2017), a dormência pode ser primária ou secundária. A dormência primária é aquela que já está presente nas sementes recém-dispersas, geralmente induzida pelo ácido abscísico e giberelinas. Enquanto, a dormência secundária é aquela que ocorre devido a alterações fisiológicas após a exposição das sementes a condições desfavoráveis à germinação.

De acordo com os mecanismos envolvidos, Hartmann *et al.* (2011) classificam a dormência das sementes, em dois grandes grupos: endógeno e exógeno. A dormência endógena tem origem no interior da semente, causada por substâncias inibidoras, imaturidade do embrião ou dormência do próprio embrião. Esse tipo de dormência é subdividido em fisiológica, morfológica e morfofisiológica. Por outro lado, a dormência exógena é aquela causada pelos envoltórios da semente, como tegumento, endocarpo e pericárpio. Esse tipo de dormência está relacionado com à impermeabilidade do tegumento (absorção de água e trocas gasosas) ao efeito mecânico e/ou a presença de substâncias inibidoras dos tecidos, e é subdividida em física, química e mecânica.

Além disso, a dormência pode ocorrer independentemente uma da outra ou simultaneamente na mesma semente, que se denomina dupla dormência (Fowler & Bianchetti, 2000). Na literatura (ex: Baskin & Baskin, 1998; Cardoso, 2009 e Hartmann *et al.*, 2011), já foram descritos alguns mecanismos de superação da dormência em função do tipo e natureza da dormência, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição de natureza, causa, mecanismos e métodos de superação de dormência

Tipo e Natureza	Causas	Mecanismos Prováveis	Métodos de Superação
Endógenos			
Fisiológica (Primária ou secundária)	Inibição da natureza fisiológica.	Inibidores químicos; Resistência dos envoltórios e potencial de crescimento do embrião; Balanço hormonal.	Ácido giberélico-GA ₃ ; Estratificação quente; Estratificação fria; Armazenamento.
Morfológica (Primária)	Embrião subdesenvolvido (rudimentar).	Embrião na fase de crescimento lento devido factores ambiente.	Armazenamento das sementes.
Morfo - fisiológica (Primária)	Combinação da dormência fisiológica e morfológica.	Embrião precisa atingir um tamanho crítico; Balanço entre promotores e inibidores; Inibidores químicos.	Estratificação quente (temperatura $\geq 15^{\circ}\text{C}$); GA ₃ ; Estratificação fria (temperatura 0-10°C).
Exógenas			
Físicas (Primária)	Inibição devido estrutura do tegumento e ou do pericárpio.	Resistência e impermeabilidade dos envoltórios.	Embebição (24-48h); Escarificação mecânica (uso de lima ou lixa de papel); Escarificação química (ácido sulfúrico, ácido úrico).
Química (Primária)	Inibidores químicos na semente ou no pericárpio.	Inibição do processo de germinação.	Remoção do pericárpio ou lixiviação dos frutos.
Mecânica (Primária)	Estrutura lenhos/pétrea do endocarpo ou mesocarpo.	Impede crescimento do embrião.	Mesmo procedimento que a dormência física.

Fonte: Lopes & Nascimento, 2012.

2.4.1. Escarificação com ácido sulfúrico (H₂SO₄)

O tratamento com ácido sulfúrico (H₂SO₄) é utilizado para quebrar a dormência de sementes com tegumento duro de algumas espécies, causando fissuras no tegumento impermeável (FAO, 2004). No entanto, é utilizado por períodos de tempo que variam de espécie para espécie. Após o tempo de tratamento, as sementes devem ser lavadas em água corrente por alguns minutos para remover o ácido, e seguidamente as sementes podem então ser semeadas. De acordo com

Borghetti & Ferreira (2004) e Embrapa, (2012) este método de escarificação apresenta as seguintes vantagens: a) quebra rápida da dormência tegumentar, permitindo a entrada de água e a germinação de espécies; b) uniformidade na germinação; c) custo acessível de aquisição do ácido, sendo atractivo para pequenos agricultores. Entretanto, segundo Borghetti & Ferreira (2004) e Embrapa (2012) existe inconvenientes inerentes ao uso de ácido sulfúrico como: a) O uso excessivo ou exposição prolongada pode causar danos severos às sementes, como descamação do tegumento, favorecendo fungos, ou afectar o eixo embrionário, resultando em perda de vigor e viabilidade das sementes; b) é uma substância altamente corrosiva e tóxica, que requer precauções, como o uso de roupas adequadas, luvas e protecção ocular; c) o descarte inadequado pode causar a contaminação de solo e água.

Nesse sentido, o ácido sulfúrico vem sendo utilizado como alternativa na quebra da dormência e aceleração da germinação de sementes com tegumento duro (Albuquerque *et al.*, 2007). Entretanto, não há registo no seu uso em sementes de *Tindziva*. Mas, a sua eficiência foi comprovada por Cipriani *et al.* (2019) onde obtiveram níveis de germinação 79% na *Chloroleucon acacioides* Ducke e 86% a 89% na *Senna macranthera* ao submeterem as sementes ao H_2SO_4 (98%) por 30, 15 e 30 min, respectivamente. Para Mota *et al.* (2018) obtiveram uma germinação 96% e 100% em sementes de *Enterolobium schomburgkii* Benth, imersas ao H_2SO_4 (95%) por 12 e 13 min, respectivamente. Já Silva *et al.* (2021) obtiveram 100% de germinação na *Erythrina velutina* Willd em H_2SO_4 (98%) por 25 min. Enquanto, Neto *et al.* (2012) obtiveram níveis de germinação de 98% e 100%, na *Adenanthera pavonina* L. ao submeterem as sementes ao H_2SO_4 (98%) por 10 e 20 min, respectivamente. Dessa maneira, este estudo propõe testar diferentes tempos de exposição de sementes de *Tindziva* ao ácido sulfúrico (95%), com intuito de identificar o tratamento mais eficiente para promover uma germinação uniforme e satisfatória. Espera-se, assim, contribuir para o aprimoramento dos métodos de superação de dormência e optimização do desempenho germinativo de *Tindziva*.

2.5. Germinação de sementes *in vitro*

O cultivo *in vitro* consiste em técnicas que permitem o a multiplicação e o desenvolvimento de células, tecidos, órgãos ou partes de órgãos de uma planta em um meio nutritivo sintético e sob condições assépticas (Carvalho *et al.*, 2011). O cultivo é realizado em recipientes mais ou menos herméticos, sob condições de iluminação e temperatura controladas (George *et al.*, 2008).

A germinação de sementes *in vitro* é uma das técnicas que podem ser utilizadas para a produção de mudas ou como ponto de partida para a obtenção de explantes saudáveis para posterior repicagem (Andrade *et al.*, 2000), ou seja, a partir da germinação *in vitro* é possível alcançar altas taxas de multiplicação, independente de condições climáticas, variações estacionais e de factores bióticos, tais como agentes polinizadores, dispersores ou patogénicos (Andrade *et al.*, 2000). Segundo Noletto & Silveira (2004) e Pinhal *et al.* (2011) a germinação *in vitro* facilita o processo germinativo de espécies com dormência ou recalcitrância, tornando mais uniforme, rápida e utilizando menos espaços, provavelmente porque as condições *in vitro* são mais adequadas aos processos de germinação e desenvolvimento inicial da plântula. No entanto, segundo Cassells (1991) e Debnath (2005) a germinação *in vitro* apresenta algumas desvantagens que incluem: a) custo elevado de infra-estruturas especializadas e mão-de-obra qualificada; b) risco de variação somaclonal, pois essas condições artificiais pode causar mutações genéticas indesejadas; c) contaminação por fungos e bactérias, quando a falhas no manejo.

Com relação a estudos de germinação de sementes *in vitro* de Tindziva, ainda não existe informações disponíveis e estudos observados na literatura para propagação desta espécie. Desta feita, o processo de germinação de sementes *in vitro* visando a produção de mudas tem sido utilizado em outras espécies e por vários autores como, Samanthi *et al.* (2013) obtiveram alta germinação (90%-100%) na *H. cannabinus* dentro de 2 a 3 dias. Por outro lado, Bhattacharya & Khuspe (2001) obtiveram uma germinação de 96% durante 7 dias em diferentes variedades de *Carica papaya* na condição *in vitro*, do que na condição *ex vitro* com 68% de germinação. Enquanto, Stein *et al.* (2007) obtiveram melhores resultados de germinação 96% na *Inga vera* Willd subsp *affinis* (DC) na condição *in vitro*, do que 82% na condição *ex vitro*. Enquanto, Daneshvar (2019) obteve a maior percentagem de germinação em sementes de *Ficus religiosa L* na germinação *in vitro* (83,33%) do que *in vivo* (42,66%).

No entanto, alguns factores são determinantes no cultivo de plantas *in vitro* a destacar origem e tipo do material vegetal, a composição do meio de cultivo, condições de incubação e os reguladores de crescimento (Embrapa, 2003). A composição do meio de cultura é fundamental para o sucesso do cultivo *in vitro* e da germinação de sementes, pois influencia directamente o crescimento de células e tecidos vegetais (Braga *et al.*, 2009). Existem diversas formulações de meios de cultura utilizadas na cultura de tecidos, cada uma oferecendo as condições necessárias para o desenvolvimento dos explantes (Phillips & Garda, 2019).

2.6. Meios de culturas no cultivo *in vitro*

Os meios de cultura fornecem os nutrientes necessários para o desenvolvimento dos tecidos e influenciam o padrão de crescimento *in vitro*. A sua composição baseia-se nas exigências minerais das plantas, podendo ser adaptado a necessidades específicas (Paiva & Paiva, 2001). Esses meios são constituídos por água, os sais inorgânicos, fonte de carbono (sacarose), vitaminas e aminoácidos, podendo ainda receber suplementos opcionais, como amidas, os ácidos orgânicos, os reguladores de crescimento (Guerra *et al.*, 2016). Podem apresentar-se em forma líquido ou solidificado com ágar ou outro agente (George *et al.*, 2008), com pH ajustado entre 5-6, faixa que assegura a disponibilidade de nutrientes ao explante (Paiva & Paiva, 2001).

Diversas formulações de meio de cultura são descritas na literatura, as quais diferem entre pela concentração dos sais, que determinam as condições ideais para o crescimento e desenvolvimento dos explantes *in vitro* (Nery *et al.*, 2007; Phillips & Garda, 2019). O meio White (White, 1934) foi um dos primeiros desenvolvido, contendo baixos níveis de nitrogénio e potássio, e embora limitando, ainda é utilizado em algumas situações (Paiva & Paiva, 2001). Posteriormente surgiu o meio de Murashige e Skoog (1961), designado por MS apresenta elevadas concentrações de nitrato, potássio e amónio, sendo amplamente utilizado em espécies herbáceas, morfogénese, cultura de meristemas e regeneração de plantas (Bertoazzo & Machado, 2010). Ele também o meio utilizado quando não existem protocolos definidos para determinada cultura (Costa Júnior, 2011), razão pela qual foi testado no presente estudo em *Tindziva*. Já o meio *Woody Plant Medium* (WPM), desenvolvido por Lloyd & McCown (1981), possui $\frac{1}{4}$ das concentrações de nitrato e amónio do MS, mas níveis altos de potássio e sulfato, sendo indicado para espécies plantas lenhosas (Quisen & Angelo, 2008; Gomes Júnior, 2011).

Embora não existam estudos relatando o uso de meios de cultura na germinação *in vitro* *Tindziva*, diferentes formulações têm mostrado resultados variados em outras espécies como Gomes Júnior (2011) obteve maiores taxas de germinação e velocidade em *Crambe abyssinica* Hochst nos meios WPM e B5. Rêgo *et al.* (2009) obtiveram 60% de germinação de *Cereus jamacaru* (DC) no meio MS, enquanto, Costa Júnior (2020) verificou maior vigor em *Vitis spp*, no meio $\frac{1}{2}$ WPM. Já Nery *et al.* (2008) obtiveram resultados semelhantes de germinação entre MS e WPM em *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich. Portanto, neste estudo, propôs investigar o desempenho dos meios de cultura MS e WPM na germinação e desenvolvimento *in vitro* de *Tindziva*. Considerando que o meio MS, amplamente usado em espécies diversas, serve como

referencia na ausência de protocolos definidos, enquanto o meio WPM é específico para espécies lenhosa, grupo ao qual *Tindziva* pertence.

2.7. Variáveis biométricas na propagação sexuada

As variáveis biométricas são características mensuráveis das plantas que fornecem dados sobre seu crescimento, desenvolvimento e desempenho (Taiz *et al.*, 2010). Essas variáveis são usadas para avaliar como diferentes factores, como condições ambientais ou tratamentos experimentais, influenciam o comportamento das plantas ao longo do tempo (Taiz *et al.*, 2010). De acordo com Borghetti & Ferreira (2004) e Taiz *et al.* (2010) entre as principais variáveis biométricas destacam-se a altura da planta, o número de folhas, o comprimento e o de raízes, o peso fresco e seco, o diâmetro do caule e a área foliar.

A altura da planta mede o comprimento total da planta, sendo indicador do vigor do crescimento da plântula, uma vez que plantas mais vigorosas tendem a apresentar maiores taxas de sobrevivência e desenvolvimento. O número de folhas representa a contagem das folhas formadas durante o desenvolvimento da plântula, reflectindo a capacidade fotossintética e o estado de crescimento da planta. O comprimento e o número das raízes são parâmetros fundamentais para avaliar o estabelecimento da planta, pois estão relacionados a eficiência na absorção de água e nutrientes e ao desenvolvimento do sistema radicular.

O peso fresco e peso seco reflectem a quantidade de água e biomassa acumulada pela planta, sendo medidas importantes de crescimento e sucesso inicial da germinação. O peso seco, em particular, reflecte o conteúdo de matéria orgânica, indicando a produtividade da planta. O diâmetro do caule: Medida da espessura do caule, expressa a robustez da planta, enquanto área foliar: corresponde a área total ocupada pelas folhas, um indicador da eficiência fotossintética.

Portanto, essas variáveis são indicadores directos de crescimento inicial da plântula, utilizados como parâmetro de qualidade para previsão de sobrevivência e desempenho em campo (Taiz *et al.*, 2010), razão pela qual, foi utilizado neste estudo. Neste contexto, propôs estudar as seguintes variáveis: altura da planta, número de folhas, área foliar, comprimento e número de raízes. Essas variáveis foram escolhidas por ser amplamente utilizados na literatura, de fácil mensuração, não exigem a destruição das plantas e permitirem uma avaliação do desenvolvimento das plântulas ao longo do experimento.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Descrição do período e local de estudo

O estudo foi conduzido no período de Julho a Agosto de 2024, na Estufa e no Laboratório de Biotecnologia do Instituto de Investigação Agrária de Moçambique, situado na cidade de Maputo (Figura 2). O clima segundo a classificação de Koppen é AW, tropical chuvoso de savana.

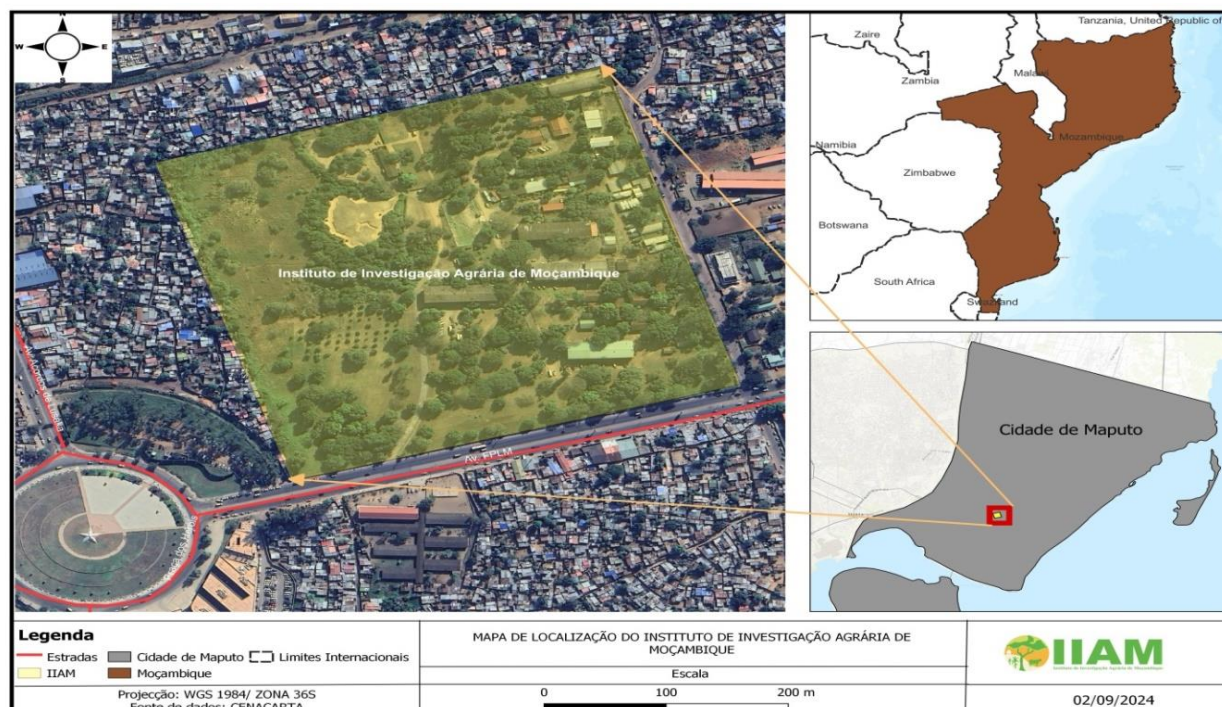


Figura 2. Mapa da área de estudo (Instituto de Investigação Agrária de Moçambique). Fonte: Cena carta, 2024.

3.2. Colecta e preparação das sementes

No estudo foram usadas sementes de Tindziva, extraídas manualmente de frutos maduros e de peso médio de 0.27g, colectados no distrito de Matutuíne, em Junho de 2024. As sementes foram separadas com auxílio de uma pinça, lavadas em água corrente para retirada dos resíduos de polpa e de casca. De seguida, as sementes foram seleccionadas, eliminando-se sementes mal formadas, quebradas ou danificadas pelo ataque de insectos. Para a obtenção da quantidade necessária à realização dos tratamentos, as sementes foram contadas, sendo, em seguida, acondicionadas em um recipiente de vidro e fechado para posterior uso.

3.3. Escarificação e germinação (*ex* e *in vitro*) das sementes

3.3.1. Experimento 1: Germinação *ex vitro* de sementes

Delineamento experimental e tratamentos

O experimento da avaliação da germinação das sementes *ex vitro* foi efectuado numa estufa (coberta por rede branca, fina e com permeabilidade parcial de luz solar e água) e teve duração de 45 dias. O experimento foi constituído por sete (7) tratamentos (tabela 2) que consistiram em diferentes tempos de exposição (5 a 30 min) da semente ao ácido sulfúrico à uma concentração de 95%, e 24h de embebedimento de sementes em água para o tratamento controlo, seguindo um delineamento completamente casualizado (DCC). A unidade experimental para cada tratamento foi constituída de 20 sementes, com quadro réplicas, perfazendo um total de 80 sementes por tratamento e 560 sementes no experimento.

Tabela 2. Composição dos tratamentos de escarificação das sementes para a germinação *ex vitro*

Tratamentos	Descrição do Tratamento
T0	Embebição das sementes em água por 24h (sem H ₂ SO ₄ , Controlo)
T1	Imersão das sementes por 5 min em solução 95% H ₂ SO ₄
T2	Imersão das sementes por 10 min em solução 95% H ₂ SO ₄
T3	Imersão das sementes por 15 min em solução 95% H ₂ SO ₄
T4	Imersão das sementes por 20 min em solução 95% H ₂ SO ₄
T5	Imersão das sementes por 25 min em solução 95% H ₂ SO ₄
T6	Imersão das sementes por 30 min em solução 95% H ₂ SO ₄

Modelo estatísticos

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Onde:

Y_{ij} – valor observado na repetição j que recebeu o tratamento i

μ – Mediana geral

τ_i – Efeito do tempo de escarificação

ε_{ij} – Erro experimental

a) Escarificação e sementeira

As sementes foram acondicionadas dentro de um recipiente de vidro previamente etiquetado de acordo com o tempo de imersão (Figura 3). De seguida, adicionou-se aos recipientes solução concentrada (95%) de ácido sulfúrico (H_2SO_4), e manteve-se as sementes por diferentes tempos de imersão (5, 10, 15, 20, 25 e 30 min, tabela 2). As sementes foram retiradas do ácido sulfúrico e lavadas em água destilada por 6 min, e imersas em água destilada por 18 horas para permitir a lavagem do ácido sulfúrico (Embrapa, 2012). Após esta lavagem foi feita a sementeira à uma profundidade de aproximadamente 2 cm (Macia, 2011), em bandejas de isopor, usando-se o substrato comercial Coco mix (contendo 60% casca de pinheiro e 40% fibra de coco), humedecido com água (Figura 3). A rega foi feita diariamente com um borrifador manual.

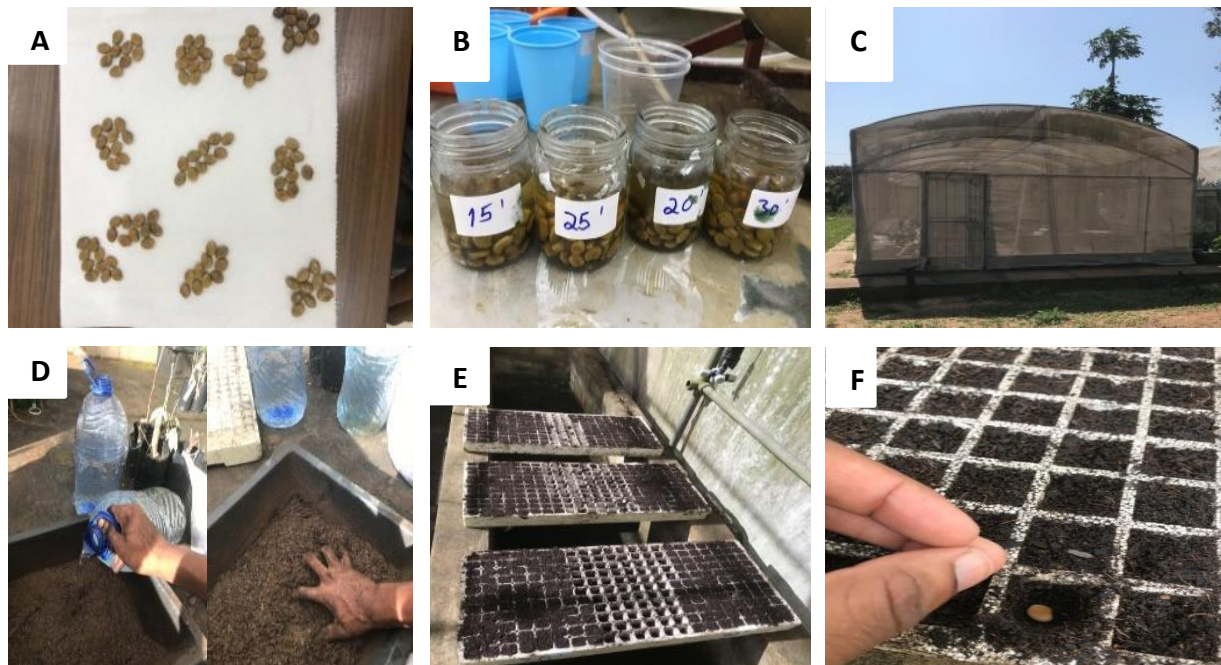


Figura 3. Experimento I-Germinação *ex vitro*. (A) Seleção e contabilização de sementes; (B) Imersão de sementes em diferentes tempos no H_2SO_4 ; (C-D) Preparação do substrato coco mix na estufa; (E-D) Sementeira.

3.3.2. Experimento 2: Germinação *in vitro* de sementes

Delineamento experimental e tratamentos

O experimento para a avaliação da germinação das sementes *in vitro* foi conduzido no laboratório de Biotecnologia e teve a duração de 15 dias. O experimento foi constituído por dois tratamentos nomeadamente: (i) meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) desenhado para espécies herbáceas e, (ii) WPM (*Woody Plant Medium*) – meio de cultivo de tecidos para plantas lenhosas como é o caso da Tindziva. Embora o meio MS tenha sido concebido para espécies herbáceas, o mesmo tem sido referência em trabalhos com plantas lenhosas, servindo de base comparativa, sobretudo quando não existe protocolos de propagação pré-estabelecido para determinada cultura (Costa Júnior, 2020), razão pela qual foi considerada para o presente estudo. No entanto, o delineamento usado foi completamente casualizado (DCC), tendo sido utilizada uma unidade experimental constituída por 10 sementes, repartidas em 4 repetições, totalizando 40 sementes por tratamento e 80 no experimento.

Modelo estatísticos

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Onde:

Y_{ij} – valor observado na repetição j que recebeu o tratamento i

μ – Média geral

α_i – Efeito do meio de cultura

ε_{ij} – Erro experimental

a) Escarificação, desinfecção e incubação de sementes

Para a quebra de dormência, as sementes foram submetidas à escarificação química com ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 95% por 20 min, tempo de imersão seleccionado com base no melhor desempenho deste tratamento no Experimento 1 (germinação *ex vitro*) comparativamente aos outros tratamentos. Em seguida, as sementes foram lavadas com água destilada autoclavada para remover o ácido e mantidas em água destilada autoclavada por 24 horas, a fim de as intumescer e facilitar a remoção do tegumento para a superação da dormência física e melhorar a germinação

(Rego *et al.*, 2014). Após esse processo, as sementes foram transferidas para a câmara de fluxo laminar, onde ficaram imersas em álcool etílico a 70% por 5 min. Em seguida, passaram por uma tripla lavagem com água destilada autoclavada durante 6 min, para garantir a remoção do álcool etílico na semente (Figura 4).

As sementes foram condicionadas em tubos de ensaio (25x150 mm) contendo 10 mL de meio de cultura MS (4.4g/L) e WPM (2.30g/L), acrescidos de 30g de sacarose, 0.1 g/L de mio-inositol (SIGMA®) e sem ágar, resultando em um meio líquido. O pH foi ajustado para 5.7 e, em seguida, introduziu-se papel de filtro nos tubos de ensaio para garantir que as sementes permanecessem submersas no meio. Os tubos de ensaio sem sementes foram então autoclavados à 125°C e 1.2 atm de pressão por 15 min. Após a esterilização, removeu-se o tegumento da semente e inoculou-se as sementes. Após a inoculação, os tubos foram mantidos em sala de crescimento sob as seguintes condições: fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25±1°C e irradiância de 32 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecida artificialmente por lâmpadas de LED (díodos emissores de luz, Figura 4) segundo o procedimento recomendado por Paiva & Paiva (2001).

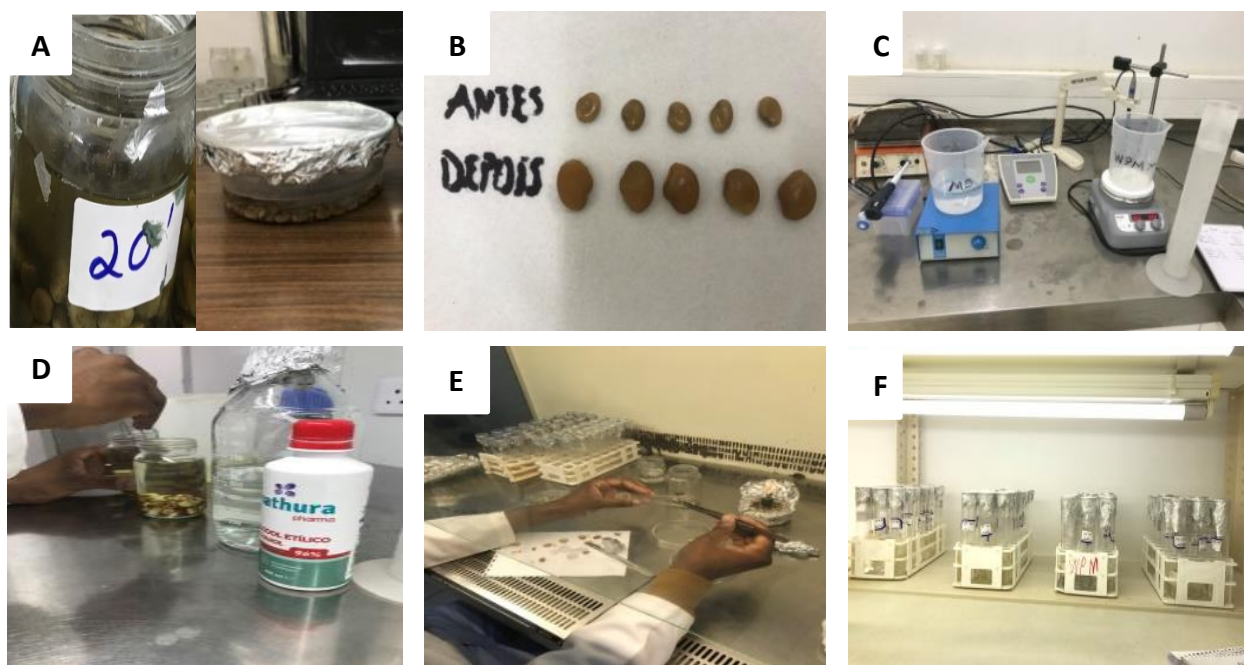


Figura 4. Experimento II-Germinação *in vitro*. (A) Escarificação de sementes; (B) Sementes antes e depois da escarificação; (C) Preparação de meio de cultura; (D) Desinfecção de sementes; (E) Remoção do tegumento e inoculação; (F) Sala de crescimento.

3.4. Procedimento de amostragem e colecta das variáveis do estudo

Para fins de recolha dos dados das variáveis estudadas no primeiro experimento de germinação *ex vitro* foi considerada uma amostragem aleatória estratificada que consiste em especificar quantos elementos da amostra serão retirados em cada estrato (Barbetta, 2006). Cada tratamento foi considerado um estrato e dentro de cada um, foi seleccionado aleatoriamente as plântulas para garantir que todas as repetições estejam representadas na amostra. Desta feita, foi colectada uma amostra de 25% das plântulas de cada tratamento. Cada repetição foi sorteada aleatoriamente 5 números para seleccionar 5 plântulas de cada repetição, resultando em um total de 20 plântulas por tratamento. Enquanto, na germinação *in vitro* para fins de recolha de dados foi utilizada amostragem aleatória simples que é aquela todos os elementos da população têm a mesma probabilidade de pertencer amostra, e cada elemento é sorteado (Barbetta, 2006). De seguida foi colectada uma amostra de 50% das plântulas de cada tratamento. Cada repetição foi sorteada aleatoriamente 5 números para seleccionar 5 plântulas, resultando em um total de 20 plântulas por tratamento.

Para as leituras da germinação e o índice de velocidade de germinação, foram feitas observações diárias na parte da manhã por volta das 08:00 horas. No final de 45 dias (*ex vitro*) e 15 dias (*in vitro*), foram avaliados a taxa de sobrevivência e as variáveis biométricas, nomeadamente: o número de folhas por plântula, altura das plântulas, área foliar, número de raízes por plântula, comprimento da raiz principal. Em seguida, são descritos os procedimentos usados para a medição de cada uma das variáveis analisadas.

a) Percentagem de germinação (%G): foi determinada através da razão entre as sementes germinadas e o total de sementes submetidas ao tratamento (para cada repetição), usando-se a equação 1, descrita por Borghetti & Ferreira (2004). Para o primeiro experimento (germinação *ex vitro*) considerou-se germinada a semente que emergiu do substrato (Figura 5A), enquanto que, no segundo experimento (germinação *in vitro*) foi considerada germinada a semente que emitiu a radícula (raiz primária, Figura 5B, Borghetti & Ferreira, 2004). Segundo Msanga (1999) a percentagem de germinação é classificada em: Muito boa (80-90%); Boa (60-79%); Suficiente (30-59%); Baixa (1-29%) e Nula (0%).

$$\%G = \frac{N^{\circ} \text{ de sementes germinadas}}{N^{\circ} \text{ total de sementes}} \times 100\% \quad (1)$$

b) Índice de velocidade de germinação (IVG): esta variável foi medida paralelamente a percentagem de germinação, através da razão entre o número de sementes germinadas a cada dia e o respectivo número de dias transcorridos desde a sementeira, segundo a fórmula de Maguire (1962) (Equação-2). A equação relaciona-se com número de sementes germinadas/dia. Quanto maior valor do IVG, maior a velocidade de germinação, o que permite inferir que mais vigoroso é o conjunto de sementes relativo a espécie e a condição do tratamento (Ranal & Santana, 2004).

$$IVG = (N_1/E_1) + (N_2/E_2) + (N_n/E_n) \quad (2)$$

- Onde: N_1, N_2 : número de plantas emergidas no dia 1, 2, 3...n;
- E_1, E_2 : número de dias 1, 2, 3,...n, para as sementes germinarem.

c) Altura da plântula (HP, cm) e comprimento da raiz (CR, cm): medidos com recurso a uma régua graduada de 30 cm, a altura da plântula foi considerada como sendo o comprimento entre base do caule até ao ápice do caule, enquanto o comprimento da raiz principal foi o comprimento desde o colo até a extremidade da raiz (Figura 5A e B).

d) Área foliar (AF, cm^2): foi estimada com o uso de uma régua graduada de 30 cm, posicionada nas duas extremidades da folha para obter o comprimento (C) e a largura (L). O cálculo foi realizado como o produto das duas dimensões (Benincasa, 2003, Equação - 3) como sendo:

$$AF = C \times L \quad (3)$$

e) Número de folhas (NF) e número de raízes secundárias (NR): foram obtidos pela contagem de cada folha por plântula, enquanto, no número de raízes foi feita pela contagem de raízes secundárias, descartando-se as terciárias devido ao emaranhamento radicular, alto número de amostras e à exaustividade do procedimento, considerando o tempo para análise.

f) Taxa de sobrevivência (TS%): foi determinada com base na razão entre o número de plantas vivas no final do experimento e o número inicial de plântulas, usando-se a seguinte fórmula (Dias *et al.*, 2024, Equação - 4):

$$TS\% = (N_f/N_i) \times 100\% \quad (4)$$

em que: N_i = número inicial de plântulas viva; N_f = número final de plântulas viva no viveiro.

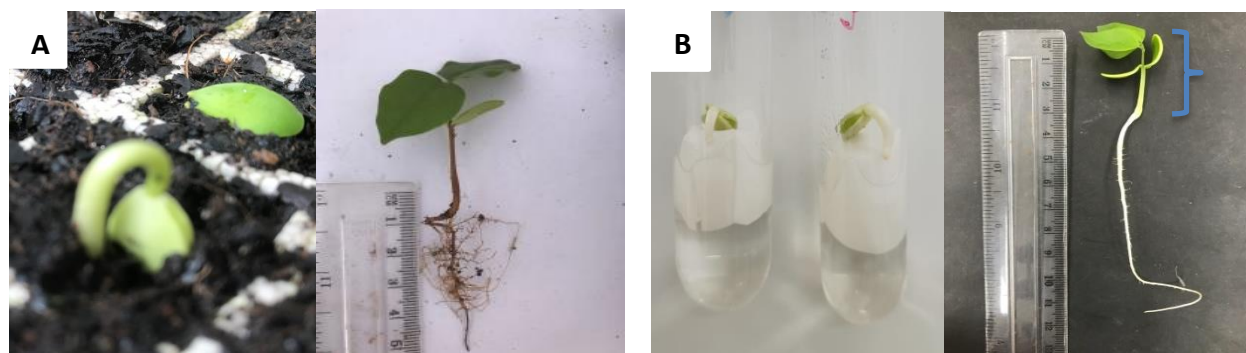


Figura 5. Germinação de semente de Tindziva e respectivas mensurações biométricas. (A) Emergência da semente e medição do comprimento da raiz principal *ex vitro*. (B) Protrusão da radícula e medição da altura da plântula *in vitro*.

3.5. Análise de dados

No primeiro experimento de germinação *ex vitro*, para a determinação da percentagem e índice de velocidade fez-se a análise de variância (ANOVA), porém os dados violaram o pressuposto de homogeneidade de variâncias, mesmo utilizando a transformação angular $\arcseno\sqrt{x} * 100\%$, $\log(x)$ e $\sqrt{x}$, aplicadas para estabilizar variâncias e normalidade de tratamentos (Borghetti & Ferreira, 2004). Como alternativa, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis para comparar os tratamentos, e procedeu-se com o teste de Dunn (0,05) a fim de identificar os pares de medianas com diferenças significativas. O efeito dos tratamentos entre as variáveis biométricas aplicou-se também o teste de Kruskal-Wallis e Dunn. Para obtenção da relação entre as variáveis biométricas usou-se a análise de correlação de Pearson, e para qualificar essas relações foram usadas as classes propostas por Schober *et al.* (2018) Tabela 3.

No segundo experimento de geminação *in vitro* para a determinação da percentagem e o índice de velocidade de germinação aplicou-se o teste *t de Student*, considerando um nível de significância de 5%. Tendo sido, inicialmente verificado os pressupostos estatísticos necessários para a aplicação do teste *t Student*, que inclui o teste de Normalidade (Shapiro Wilks) e Homogeneidade de variâncias (Levene). Além disso, o efeito dos tratamentos foi submetido ao teste de Mann-Whitney (alternativa ao teste *t Student*). Para obtenção da relação entre as variáveis biométricas recorreu-se a análise de correlação de Pearson, e para qualificar também

foi usado as classes da Tabela 3. Portanto, para ambos os experimentos as análises foram realizadas no *software RStudio*.

Tabela 3. Classes de coeficiente de correlação de Pearson

Classes do coeficiente de Pearson	Descrição da correlação entre as variáveis
0.0 – 0.19	Muito fraca
0.2 – 0.39	Fraca (ligeira relação entre variáveis)
0.40 – 0.69	Moderada (correlação estatisticamente significativa para além de 1%)
0.70 – 0.89	Forte (correlação que torna possíveis predições do grupo de que são dignas)
0.90 – 1.00	Muito forte (íntima relação entre as variáveis correlacionadas)
[-]	Denotação para casos de uma correlação negativa entre as variáveis.

Fonte: Schober *et al.*, 2018.

Por outro lado, durante a execução deste estudo, verificaram-se algumas limitações de ordem técnica e metodológica que condicionaram, em certa medida, a obtenção e análise dos resultados. A análise estatística mostrou-se limitada devido à variabilidade dos dados, dificultando a aplicação de teste de análise de variância (ANOVA). Houve dificuldades na remoção do tegumento das sementes e na definição de um protocolo adequado de germinação *in vitro*, pela ausência de estudos prévios sobre a *Tindziva*, o que exigiu a adaptação de protocolos baseados outras espécies. Apesar dessas limitações, o trabalho proporcionou resultados relevantes e indicativos, que servirão de base para ajustes futuros nos protocolos de desinfecção, escarificação e germinação *in* e *ex vitro*, contribuindo para o avanço do conhecimento sobre a propagação de espécies nativas de Moçambique, em particular da *Tindziva*.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento 1: Efeito da escarificação com ácido sulfúrico na germinação *ex vitro* de sementes de Tindziva

O foco neste experimento foi analisar o efeito de diferentes tempos (5, 10, 15, 20, 25 e 30 min) de imersão de sementes de Tindziva ao ácido sulfúrico (95%) na germinação de sementes, características biométricas, estabelecimento e sobrevivência das plântulas, comparados com a embebição das sementes em água pura por 24h (tratamento controle).

Nesse experimento houve germinação em todos tratamentos, com exceção do T0 (Controle) Tabela 4. Não foi verificada uma relação clara entre os diferentes tratamentos e o início ou final da germinação de sementes.

Tabela 4. Duração do tempo de germinação *ex vitro*

Tratamentos	Germinação Inicial	Germinação Final
T0	Nenhuma	Nenhuma
T1	12º Dia	40º Dia
T2	14º Dia	42º Dia
T3	19º Dia	41º Dia
T4	12º Dia	42º Dia
T5	19º Dia	41º Dia
T6	12º Dia	43º Dia

Os resultados obtidos para o T0 (embebição das sementes em água por 24 horas) diferem dos observados por Macia (2011), que verificou germinação *ex vitro* após 14 dias em sementes de Tindziva embebidas por 72 horas. Essa diferença pode estar relacionada ao maior tempo de embebição das sementes (72horas) usado por Macia (2011), o que favorece a permeabilidade do tegumento e a absorção de água. De acordo com Lopes & Nascimento (2012), para espécies com tegumento rígido, a imersão em água entre 24 a 48 horas pode aumentar o sucesso da germinação em até 90%. Estas constatações sugerem que, em experimentos futuros, o tempo de embebição das sementes em água seja de, no mínimo, 48 horas antes da sementeira, a fim a germinação.

Em relação aos tratamentos com o ácido sulfúrico, os resultados diferem com os observados por Neto *et al* (2012), verificaram o início no 7º dia em sementes *Adenanthera pavonina* L, tratadas com H₂SO₄ (98%) por 10 e 20 min, enquanto Dias *et al* (2022) observaram germinação no 4º dia em *Leucaena leucocephala* (Lam) de Witt, submetida ao H₂SO₄ (95%) por 5 min. As diferenças entre os resultados podem estar relacionadas às características das sementes das espécies (dureza do tegumento) usadas pelos autores, à concentração do ácido e ao tempo de exposição, conforme afirma Nascimento *et al* (2009). Estes resultados sugerem que, para garantir o sucesso da germinação em experimentos futuros, a escarificação com ácido sulfúrico a sua concentração deve ser no mínimo 95% e o tempo de exposição de 5 e 20 min. Ressalta-se, contudo, que a o efeito da escarificação com ácido sulfúrico varia conforme a espécie, no processo germinativo.

4.1.1. Percentagem de germinação de sementes (%G)

O teste de Kruskal-Wallis revelou a existência de diferenças significativas ($p < 0.05$) entre os tratamentos na percentagem de germinação de sementes. A análise de comparações múltiplas pelo teste de Dunn (Figura 6) revelou que todos os tratamentos com ácido não diferiram estatisticamente entre si, mas tiveram todos um desempenho superior ao tratamento controle na promoção da germinação de sementes. Enquanto, no T0 não germinou nenhuma semente, o T4 teve tendência a promover uma maior germinação com cerca de 75% de sementes germinadas, seguido do T2 (68%), T3 (60%), T5 (60%), T1 (58%) e por último T6 (48%).

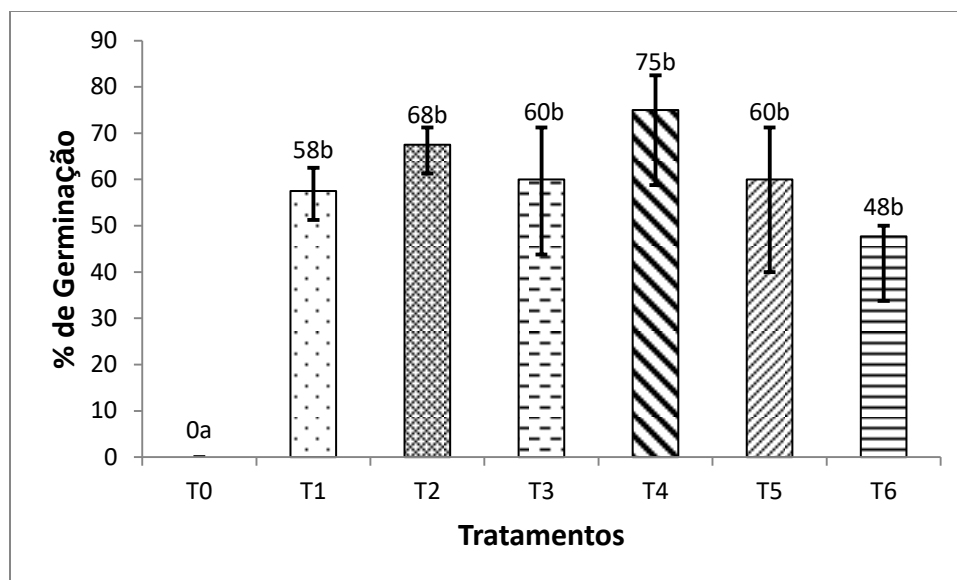


Figura 6. Percentagem de germinação *ex vitro* de sementes de Tinziva, expostas a diferentes tempos de tratamento com ácido sulfúrico. Medianas seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si ($p < 0.05$) pelo teste de Dunn. As barras de erro representam o intervalo interquartil.

Os resultados obtidos para T0 (0%) diferem dos observados por Macia (2011), o qual obteve 9% a 21% de germinação em sementes de Tindziva semeadas em Dezembro e embebidas em água por 72 horas. Essa diferença pode estar relacionada tanto ao período de sementeira, realizado em época fria e seca (Julho) no presente estudo, em contraste com a época quente e chuvoso (Dezembro) observado por Macia (2011), quanto ao maior tempo de embebição (72 horas, contra 24 horas neste estudo). Segundo Souza *et al.* (2007) e Pacheco (2014), a germinação é influenciada pela temperatura, sendo que as espécies tropicais germinarem melhor em condições mais quentes. Além disso, Baskin & Baskin (2014) explicam que, sementes com tegumento duro quanto mais tempo permanecerem imersas na água, maior será a possibilidade de acelerar o rompimento do tegumento e iniciar o processo germinativo, aumentando assim a taxa de germinação. Assim, a ausência de germinação reforçam a necessidade de fazer a sementeira em épocas quentes e prolongar o tempo de embebição de sementes em água.

Em relação aos tratamentos com o ácido sulfúrico diferem com os observados por Neto *et al.* (2012) obtiveram taxa de germinação de 98% e 100% em *Adenanthera pavonina* L submetidas ao H_2SO_4 (98%) por 10 e 20 min, enquanto, Gazola *et al.* (2015) obtiveram 96% de germinação em *Schizolobium parahyba* (Vell), submetida ao H_2SO_4 (95%) por 10 min, uma diferença que pode ser justificada tanto pela diferença nas espécies estudadas assim como na concentração do

ácido testado, conforme relatado por Albuquerque *et al.* (2007). De acordo com a escala de classificação da germinação de espécies nativas proposta por Em Msanga (1999), os resultados obtidos neste estudo podem ser classificados como bons para T2, T3, T4 e T5, que apresentaram uma percentagens de germinação entre 60 – 79%, suficiente para T1 e T6 (30 – 59%) e nulo para T0 (0%). As diferenças observadas entre os tratamentos no presente estudo (Figura 7), podem dever-se às características individuais de vigor das sementes, ocasionado pelas variações genéticas e ao tempo de exposição ao ácido (Albuquerque *et al.*, 2007 e Montanari Júnior., 2008).

Por outro lado, observou-se uma tendência de aumento na proporção de sementes podres com o prolongamento do tempo de escarificação em ácido sulfúrico, passando de 0% no T0 para 56.3% no T6, sugerindo que exposições prolongadas ao ácido podem ser prejudiciais, conforme também observado por Silva *et al.* (2021) em sementes de *Erythrina velutina* Willd submetidas a tempos crescentes de imersão em H_2SO_4 . Tal efeito pode estar relacionado aos danos causados pelo ácido sulfúrico no embrião, pois a escarificação química degrada o tegumento e pode danificar células vitais, o que favorece as injúrias mecânicas e a invasão de fungos, prejudicando a emergência da plântula e a viabilidade das sementes, mesmo após sucessivas lavagens para a remoção do ácido na superfície das sementes (Rolston, 1978; Beltrame & Lopes, 2011). Assim pode-se indicar, a utilização do ácido sulfúrico para a obtenção satisfatória de germinação (75% e 68%) de sementes de Tinziva em programas de reflorestamento, onde se pretende a maximização de produção mudas. No entanto, apesar da sua eficiência comprovada, a escarificação com este tratamento não deve ser prolongada (deve ser entre 10 a 25 min), devido ao seu potencial efeito corrosivo capaz de comprometer a viabilidade das sementes.

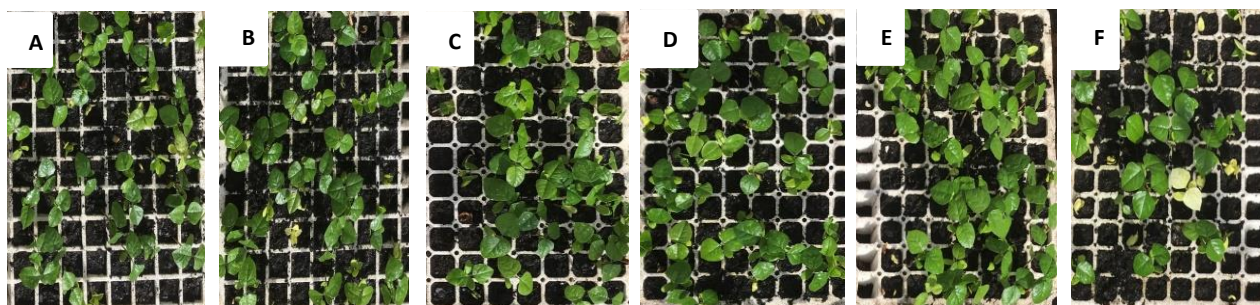


Figura 7. Desenvolvimento inicial da germinação *ex vitro* de Tinziva após 45 dias, resultante de escarificação ao ácido sulfúrico: (A) T1-5min; (B) T2-10min; (C) T3-15min; (D) T4-20min; (E) T5-25min; (F) T6-30min.

4.1.2. Índice de velocidade de germinação de sementes (IVG)

Em relação ao vigor germinativo, o teste de Kruskal-Wallis detectou diferenças significativas ($p < 0.05$) entre os tratamentos. A análise de comparações múltiplas pelo teste de Dunn (Figura 8) revelou que todos os tratamentos com ácido sulfúrico (T1 a T6) não diferiram estatisticamente entre si, embora a maioria destes tratamentos tenham apresentado um desempenho significativamente superior ao T0. No entanto, o T4 teve tendência a apresentar uma maior velocidade, com 0.66 sementes germinadas por dia, seguido de T1 e T2 (0.53), T3 e T5 (0.51) e por último T6 (0.39).

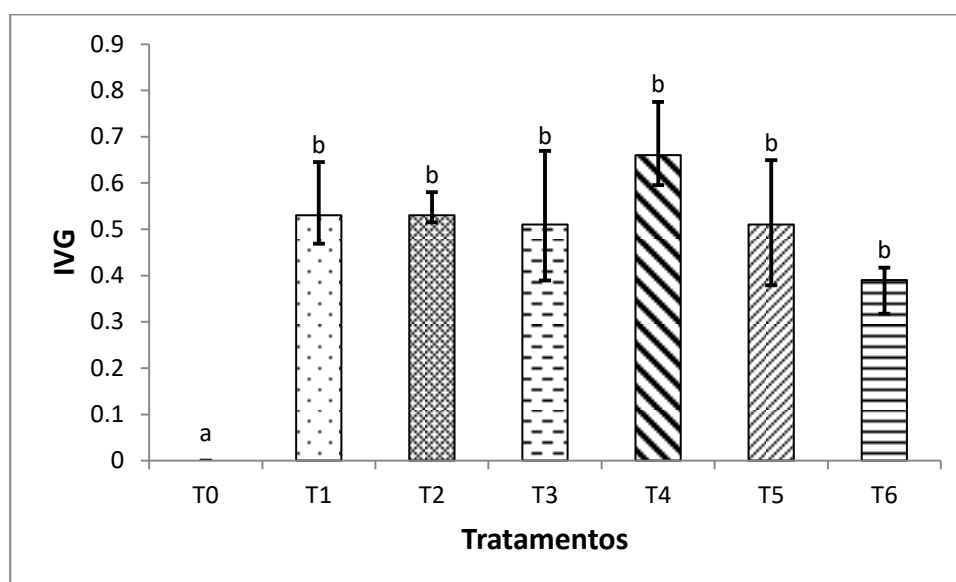


Figura 8. Índice de velocidade de germinação *ex vitro* de sementes de Tinziva, expostas a diferentes tempos de tratamento com ácido sulfúrico. Medianas seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si ($p < 0.05$) pelo teste de Dunn. As barras de erro representam o intervalo interquartil.

Os resultados de velocidade germinação verificados para T0 (embebição de sementes por 24 horas) diferem com os resultados observados por Macia (2011), ao avaliar o efeito da embebição de sementes de Tinziva em água por 72 horas, o qual obteve uma velocidade de germinação de 0.61 de sementes germinadas por dia, o que pode estar relacionado ao maior tempo de embebição das sementes (24 horas versus 72 horas). Isso ocorre segundo Silva *et al* (2021), devido a dureza e impermeabilidade do tegumento, que restringe a entrada de água e oxigênio, inibindo o desenvolvimento do embrião, retardando a germinação e muitas vezes, a depender de longos períodos de exposição aos factores adversos do solo e climáticos. Embrapa (2012)

apontam que, sementes com tegumento duro podem germinar mais rapidamente após embebição em água, por um período de 24 a 48 horas, podendo ainda o tempo ser prolongado de acordo com a espécie vegetal. Estas constatações sugerem que, para garantir um sucesso no vigor germinativo, o tempo de embebição das sementes em água deve ser prolongado por 72 horas antes da sementeira.

Por outro lado, observou-se um padrão na percentagem de germinação (Figura 6) e índice de velocidade de germinação (Figura 8), haver uma tendência positiva entre o valor superior para o tempo de imersão por 20 min, sugerindo uma maior percentagem de germinação relacionado com a maior velocidade de germinação. Esse padrão está de acordo com a literatura, que evidenciam a existência de uma tendência de maior valor de percentagem de germinação estarem associados a maior média de velocidades de germinação (Albuquerque *et al.*, 2007). Uma correlação positiva entre essas variáveis também foi observado por vários autores como Neto *et al.* (2012) na *Adenanthera pavonina L* e Andrade *et al.* (1997) na *Bowdichia virgilioides* Kunth, considerando que estes autores também testaram diferentes tempos de imersão das sementes ao ácido sulfúrico.

Contudo, resultados diferentes de velocidade de germinação de sementes em resposta à escarificação com ácido sulfúrico foram observados por outro autores como Neto *et al.* (2012) obtiveram velocidade de 1.88 em *Adenanthera pavonina L.*, submetendo ao H₂SO₄ (98%) por 10 e 20 min, enquanto, Gazola *et al.* (2015) obtiveram 0.96 de velocidade de germinação na *Schizolobium parahyba* (Vell), submetido ao H₂SO₄ (95%) por 10 min, uma diferença que pode ser justificada tanto pela diferença nas espécies estudadas, na concentração do ácido testada, tempo de exposição ao ácido assim como provavelmente nas condições ambientais do estudo conforme sustentado por Maguire (1962) e Vieira *et al.* (2021). Esses resultados sugerem que embora a escarificação química das sementes de Tinziva com ácido sulfúrico permita a quebra de dormência, a mesma pode não afectar directamente a velocidade de germinação o qual parece ser mais afectado pelas características da própria do que por tratamentos externos. Com isso, esses resultados pode gerar implicações negativas para viveiros comunitários no que diz respeito a atractividade da propagação da espécie, aumento de custos operacionais (como irrigação, manejo e adubação) e ocupação prolongada do espaço no viveiro.

4.2. Experimento 2: Efeito do meio de cultivo na germinação *in vitro* de sementes de Tinziva

O foco neste experimento foi analisar o efeito de diferentes meios de cultura de tecidos (MS para espécies herbáceas e WPM para espécies lenhosas) na germinação de sementes Tinziva, características biométricas, estabelecimento e sobrevivência das plântulas. Neste experimento, para ambos tratamentos (MS e WPM), houve excelente germinação de sementes, marcada pela protrusão da radícula (Figura 9) e com o seu início registado logo no 2º dia após a incubação (DAI) e o seu término ao 4º DAI. Estes resultados de germinação não diferem dos observados em outros estudos tais como o de Samanthi *et al.* (2013) que obtiveram excelente germinação *in vitro* na *Hibiscus cannabinus* Kenaf num período de 2 a 3 dias com o uso do meio MS e WPM, enquanto, Ayadi *et al.* (2011) obtiveram boa taxa de germinação em um período de 3 dias, em sementes escarificadas de *Hibiscus cannabinus* usando o meio MS. Vieira *et al.* (2021) apontam que uma rápida germinação de sementes é desejável para o viveiristas uma vez que melhora a viabilidade do negócio devido à rápida produção de mudas, permitindo vários ciclos de produção ao longo do ano. Além disso, em programas de melhoramento possibilita a selecção precoce de características desejadas, o que acelera programas de melhoramento genéticos e permite a redução de custos operacionais (Watson *et al.*, 2020). Diante desses resultados, pode-se indicar, para obtenção de uma satisfatória germinação em curto espaço de tempo o meio MS ou WPM, na germinação *in vitro* de sementes de Tinziva.

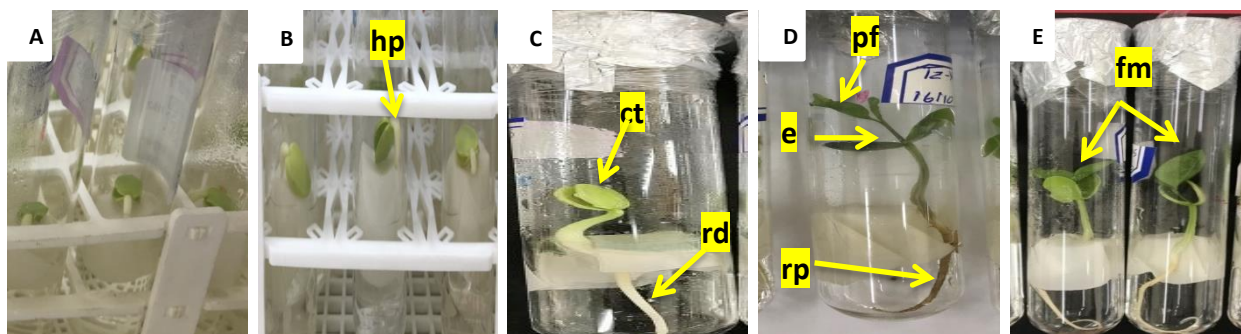


Figura 9. Estágios de desenvolvimento de sementes *in vitro* de Tinziva. Na ordem, protrusão da radícula (A), crescimento da radícula (B), emissão de cotilédones (C), abertura dos cotilédones (D), plântulas já com folhas modificadas (E). Legenda: ct - cotilédones; fm – folha modificadas; hp – hipocótilo; pf – primórdios foliar; rd - radícula; rp – raiz primária; ep – epicótilo.

4.2.1. Percentagem de germinação de sementes (%G)

De acordo com o teste de t Student, não houve diferenças estatisticamente significativas ($p > 0.05$) entre os tratamentos (MS e WPM) na percentagem de germinação. Ambos os meios apresentaram alta eficiência, com 100% das sementes germinadas (Figura 10).

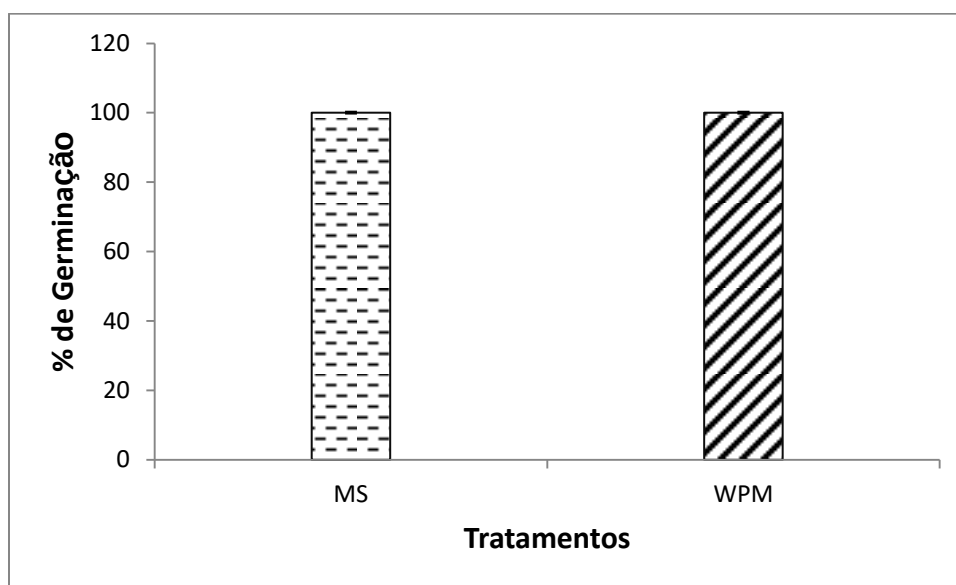


Figura 10. Percentagem de germinação *in vitro* de semente de Tinziva inoculadas em diferentes meios de cultura. As médias não diferem estatisticamente ($p > 0.05$) pelo teste t Student.

O resultado da percentagem de germinação (100%) verificada no experimento *in vitro* em ambos meios de cultura pode estar relacionado com o pré-tratamento apropriado das sementes que em parte consistiu na remoção total do tegumento das sementes melhorando a exposição do embrião ao meio, o que acelera o processo de embebição, a primeira fase do processo germinativo, o qual a germinação não ocorre (Hartmann *et al.*, 2011). Rego *et al* (2014) indicam que a retirada do tegumento das sementes apresenta-se como um método de superação de dormência física facilitando a germinação de sementes no cultivo *in vitro*, trazendo, porém, uma maior necessidade de sanidade do ambiente de propagação devido a maior exposição dos cotilédones e embrião aos agentes fitopatogénicos decorrente da perda da protecção física imposta pela presença do tegumento. A importância da remoção do tegumento já foi relatada em vários estudos como sendo fundamental para a germinação *in vitro*. Por exemplo, Pinheiro *et al.* (2001) e Moraes *et al.* (2010) estudando a germinação de sementes de *Hancornia speciosa* G e *Cynara cardunculus* L, respectivamente, em diferentes meios de cultura, observaram que as

sementes sem tegumento obtiveram maior germinação (90% e 77.5%, respectivamente), enquanto, as mantidas com o tegumento intacto tiveram baixa germinação (25% e 0%, respectivamente).

Estes resultados de germinação não diferem dos observados em outros estudos como o de Soares (2005) que obteve alta germinação (90%) *in vitro* na *Hancornia speciosa* (Gomes) usando meio WPM e MS/2, enquanto, Nery *et al.* (2008) obtiveram 100 – 98% de germinação em sementes de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich usando o meio MS e WPM, respectivamente. Esse resultado tem implicações práticas relevantes nos programas de melhoramento genético e de conservação, pois permite o aproveitamento máximo dos genótipos (ciclos mais rápidos), redução de perdas genéticas, formação de bancos de germoplasma eficiente e obtenção de uma base sólida para reintrodução em ambientes naturais (FAO, 2004). Portanto, para garantir o sucesso e eficácia da germinação (100%) em experimentos futuros, a remoção do tegumento deve ser feita antes da inoculação reforçando a teoria de que a presença do tegumento realmente constitui uma barreira física à germinação de sementes de Tinziva e pode-se indicar, a utilização do meio MS ou WPM na obtenção satisfatória de germinação *in vitro*, dependendo da disponibilidade dos meios.

4.2.2. Índice de velocidade de germinação de sementes (IVG)

Em relação à velocidade de germinação, a análise pelo teste de t Student não revelou diferenças estatisticamente significativas ($p > 0.05$) entre os tratamentos. Ambos os meios apresentaram desempenho semelhante em termos de vigor germinativo (Figura 11), com médias de 3.8 sementes germinadas por dia.

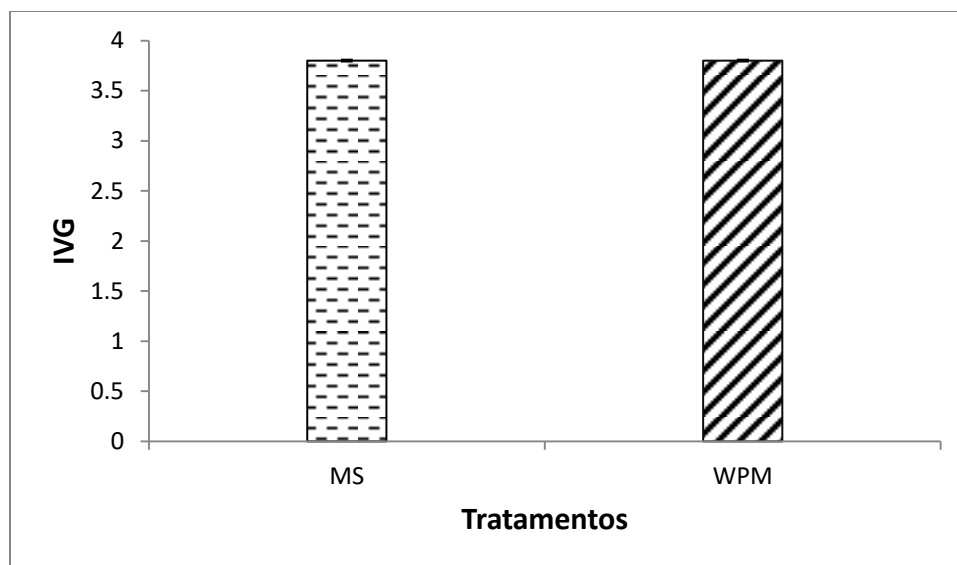


Figura 11. Índices de velocidade de germinação *in vitro* de sementes de Tinziva inoculadas em diferentes meios de cultura. As médias não diferem estatisticamente ($p > 0.05$) pelo teste t Student.

Os resultados de velocidade de germinação idênticos verificados no experimento *in vitro* em ambos os meios de cultura, pode estar relacionado com as condições do cultivo *in vitro* como a disponibilidade de humidade e a ausência de estresses ambientais (ex: oscilações na temperatura e disponibilidade de luz). Além disso, a alta velocidade de germinação das sementes pode ter sido favorecido pelo pré-tratamento das sementes que consistiu na remoção do tegumento melhorando a exposição do embrião ao meio de cultivo, o que facilitou a embebição da semente, a qual constitui a fase inicial do processo germinativo (Hartmann *et al.*, 2011).

Estes resultados não diferem dos observados em outros estudos como o de Nery *et al.* (2008) que obtiveram alto vigor germinativo *in vitro* na *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich, tanto com o uso do meio MS assim como WPM. Da mesma forma, Soares (2005) obteve alto vigor germinativo *in vitro* na *Hancornia speciosa* (Gomes) usando o meio WPM e MS/2. Embrapa (2003) explica que, a composição nutricional, embora importante, pode não ser o factor determinante isolado para o sucesso da germinação *in vitro*, sendo influenciado também por características da semente como a viabilidade e dormência. Com base nesses resultados, pode-se inferir que tanto o MS quanto o WPM podem ser utilizadas na propagação sexual *in vitro* de Tinziva sem prejuízos na velocidade de germinação. Costa Júnior (2020) explica que, um bom vigor germinativo das sementes representa uma vantagem significativa diante da necessidade dos viveiristas de obter mudas rápidas em curto período de tempo, permitindo vários ciclos de

produção de novas mudas ao longo do ano. De acordo com Vieira *et al.*, (2021) explica que, ter mais germinações em menos tempo permite ter uma disposição de mudas padronizado em menos tempo, características desejáveis em viveiro para produção de mudas comercial ou não. Assim como, tem implicações em programas de melhoramento e conservação, possibilitando a redução do tempo entre as gerações, maior eficiência na produção de mudas em escala, rapidez na multiplicação de indivíduos e aceleração do ciclo de melhoramento genético.

No presente experimento de propagação *in vitro*, observou-se o início da germinação ao 2º dia após a inoculação, com conclusão até ao 4º dia, diferendo substancialmente da germinação no experimento *ex vitro* que ocorreu entre o 19º e 40º dia, demonstrando que a técnica *in vitro* permite acelerar o processo germinativo da Tinziva em cerca de 10 vezes, alcançando uma taxa de sucesso de 100%, independentemente do meio de cultura utilizado. Essa diferença significativa demonstra o potencial do cultivo *in vitro* como método eficiente para superar a dormência e reduzir o tempo necessário para a emergência de sementes. Além disso, o ambiente controlado *in vitro* favoreceu a obtenção de mudas saudáveis, uniformes e com maior controle de qualidade, o que é vantajoso em produção comercial. Do ponto de vista prático e produtivo, o uso da germinação *in vitro* pode permitir a realização de vários ciclos de produção de mudas ao longo do ano, otimizando espaço, tempo e recursos. Contudo, há que ter-se em conta os custos operacionais do cultivo *in vitro* é, em geral, superior aos dos métodos convencionais como o de germinação *ex vitro*, pelo que, há uma necessidade de estudos de viabilidade económica do uso do método para produção de mudas de Tinziva visto que os custos de produção afectam o preço final das mudas assim como a margem líquida.

4.3. Efeito da escarificação de sementes de Tinziva com H₂SO₄ (*ex vitro*) e dos meios de cultivo (*in vitro*) nas variáveis biométricas das plântulas

De acordo com análise de Kruskal-Wallis, verificou-se diferença significativa ($p < 0.05$) para a altura da plântula (HP) na germinação *ex vitro*, com maiores valores nos tratamentos T2 (10 min) e T5 (25 min) (6 cm) e diferindo com o T1 (5 min) (4 cm). Para área foliar (AF), número de raízes (NR) e comprimento de raízes (CR), não houve diferenças significativas ($p > 0.05$) entre os tratamentos (Tabela 4). No experimento *in vitro*, a análise pelo teste de Mann-Whitney não detectou diferença significativa ($p > 0.05$) entre os meios de cultura MS e WPM para nenhuma

das variáveis biométricas avaliadas, embora o meio MS tenha mostrado tendência a maiores valores medianos para AF, NR e CR (Tabela 5).

Tabela 5. Efeito de diferentes tempos de escarificação de sementes de Tinziva com H₂SO₄ e dos meios de cultivo no desenvolvimento de plântulas após 45 dias (*ex vitro*) e 15 dias (*in vitro*).

Variáveis	Germinação <i>ex vitro</i>							Germinação <i>in vitro</i>		
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Md	MS	WPM	Md
HP	4a	6b	5bc	4.5ac	6bc	4.5abc	4.75	3a	3.3a	3.15
AF	5.1a	5.6a	5a	5a	5.8a	5.1a	5.1	2.6a	2.1a	2.35
NR	27.4a	27.6a	23.2a	21.6a	25.3a	20.6a	24.25	4a	3.5a	3.75
CR	3.8a	4.5a	4a	4.3a	4a	4.8a	4.15	7a	6a	6.5

Medianas seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente pelo teste dunn (*ex vitro*) e pelo teste de Mann-Whitney (*in vitro*) ao nível de 5% de probabilidade. HP = Altura da plântula, AF = Área foliar, NR = Numero de raízes, CR = Comprimento das raízes e Md = Mediana geral.

Os resultados obtidos indicam que o tempo de imersão no ácido sulfúrico influencia o desenvolvimento inicial das plântulas de Tinziva quando germinadas *ex vitro*, especialmente no parâmetro altura da plântula (HP). Tempos intermediários de imersão, como 10 e 25 min, proporcionaram maior crescimento, sugerindo um equilíbrio entre a remoção da impermeabilidade do tegumento e a preservação da viabilidade do embrião. Além disso, permitiram produção de plantas mais forte e com maior potencial fotossintético e absorção de nutrientes. Uma vez que, tempo curto T2 podem não romper completamente a dormência, enquanto tempos muito longos T6 podem causar danos à semente, reduzindo o potencial de crescimento inicial. Esse comportamento é semelhante com o relatado por Sakhanokho (2009), que observou que a escarificação com H₂SO₄ por 10 a 20 min aumentou o vigor de plântulas de *Hibiscus* cultivadas tanto *in vitro* quanto *ex vitro*. Enquanto, Silva *et al.* (2021) obtiveram maiores médias do comprimento de parte aérea em sementes de *Erythrina velutina* Willd, submetidas ao H₂SO₄ por 25 min. Esses resultados reforçam que há um intervalo de tempo de imersão que maximiza a superação da dormência,

Na germinação *in vitro*, a ausência de diferenças significativas entre os meios MS e WPM sugere que ambos podem sustentar o crescimento inicial das plântulas de Tinziva. No entanto, os

valores numericamente superiores obtidos no meio MS corroboram estudos que destacam sua maior eficiência devido a composição nutricional mais concentrada e rica, especialmente no fornecimento de macronutrientes essenciais para o desenvolvimento inicial (Paiva & Paiva, 2001). Resultados similares foram observados por Pierine *et al.* (2019) obtiveram maior crescimento aéreo e radicular em sementes de *Muntingia calabura* submetidas no meio MS.

Por outro lado, na germinação *in vitro*, mesmo com um período de cultivo reduzido (15 dias), as plântulas apresentaram maior CR em comparação com as cultivadas *ex vitro* por 30 dias. Esse comportamento pode estar associado às condições controladas do ambiente *in vitro*, que favorecem a disponibilidade de nutrientes, humidade e a ausência de estresses ambientais, factores que estimulam o alongamento radicular (Salehi *et al.*, 2020). Além disso, meios líquidos aumentam substancialmente o sistema radicular devido ao maior contacto com meio, facilitando a absorção de nutrientes e água (Costa *et al.*, 2020). Esses resultados tem implicações na conservação e melhoramento genético, uma vez que, possibilita escolher o meio com base em critérios práticos (como custo, disponibilidade, facilidade de preparo ou adaptação a outras etapas do cultivo), selecção genética ocorra de forma mais confiável, sem vícios devido ao meio, Com isso, esses resultados indicam que tempos de imersão entre 10 e 25 min no ácido sulfúrico são os mais adequados para promover maior vigor inicial *ex vitro*, enquanto, no *in vitro*, a escolha do meio MS pode potencializar o desenvolvimento inicial de Tinziva.

4.4. Relação entre as variáveis biométricas das plântulas de Tinziva produzidas *ex* e *in vitro*

A análise de correlação de Pearson verificou-se através das estimativas que houve correlação forte entre as variáveis biométricas avaliadas na germinação *ex vitro* (Figura 12A) e *in vitro* (Figura 12B).

Na germinação *ex vitro*, observou-se correlação forte entre AF e NR ($r = 0.76$), sugerindo que um sistema radicular mais desenvolvido contribui para maior área foliar, possivelmente pela maior capacidade de absorção de água e nutrientes (Silva *et al.*, 2017). Da mesma forma, a forte correlação entre AF e HP ($r = 0.7$) demonstra que plantas mais altas tendem a desenvolver maior área foliar, o que melhora a captação de luz e a fotossíntese, o que promove o crescimento da parte aérea (Taiz *et al.*, 2017). As demais correlações apresentaram valores intermediários e negativos baixos (entre -0,29 e 0,29), sem indicação de dependência forte, o que reflecte

interacções biológicas complexas e influenciadas por múltiplos factores ambientais, tornando a germinação *ex vitro* mais heterogénea.

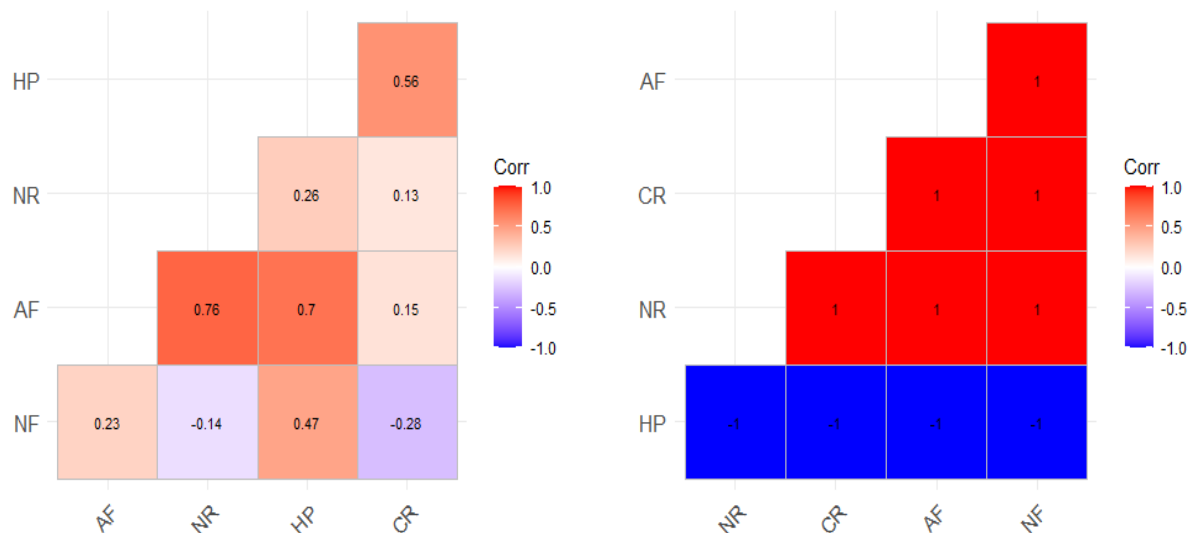


Figura 12. Correlação entre as variáveis biométricas de germinação *ex vitro* (A) e *in vitro* (B): altura da plântula (HP), número de folhas (NF), área foliar (AF), número de raízes (NR) e comprimento de raiz (CR) de Tiniza.

Por outro lado, na germinação *in vitro* observou-se correlação perfeita positiva ($r = 1$) entre todas as variáveis, com excepção da altura da planta (HP), que apresentou correlação perfeita negativa ($r = -1$) com todas as demais. Este comportamento indica que, sob condições controladas do cultivo *in vitro*, as variáveis biométricas (excepto altura) variaram de forma idêntica, resultando em um crescimento proporcional da parte aérea e radicular. Estudos similares foram observados na *Muntingia calabura* L. (Pierine *et al.*, 2019) e *Vigna unguiculata* (Castro *et al.*, 2024), onde obtiveram correlações positivas entre o desenvolvimento aéreo e radicular durante a germinação *in vitro*. A HP seguiu direcção oposta, sugerindo que o alongamento da parte aérea ocorresse em detrimento do desenvolvimento foliar e radicular, possivelmente como resposta a factores como baixa intensidade luminosa, alta humidade relativa e ausência de estímulos mecânicos típicas do cultivo *in vitro*. Segundo Kanashiro (2005) aponta que diversas variáveis, entre as quais o comprimento das plantas, podem ser influenciadas pelas concentrações diluídas de macronutrientes no meio WPM, assim como, em concentrações não diluídas no meio MS nas fontes e pela espécie.

4.5. Efeito da escarificação de sementes de Tinziva com H₂SO₄ (*ex vitro*) e dos meios de cultivo (*in vitro*) no estabelecimento e sobrevivência das plântulas

Na germinação *ex vitro* (Figura 13), a aplicação do ácido sulfúrico resultou em taxa de sobrevivência variando de 85.5% a 96.6% de acordo como os tempos de exposição (5, 10, 15, 20, 25 e 30 min). O maior índice de sobrevivência (96.3%) foi observado no T2, seguido de 95% (T4), 94% (T3), 93.9% (T5) e 93.6% (T1), enquanto o tempo mais prolongado atingiu o valor mínimo de 85.7% (T6). De forma geral, verificou-se que a sobrevivência das plântulas é boa sugerindo que uma vez quebrada de dormência das sementes de Tinziva, desde que se forneçam condições adequadas de cultivo, as possibilidades de sucesso no estabelecimento das mudas são muito maiores.

Por outro lado, a taxa de sobrevivência das plântulas obtidas a partir da germinação *in vitro* (Figura 14) de sementes de Tinziva foi de 98% no MS e 96% no WPM. Esse resultado pode ser atribuído à composição balanceada de nutrientes presentes em ambos os meios, indicando que as condições dos meios de cultura (MS e WPM) e os protocolos adotados foram eficazes na manutenção das plântulas em desenvolvimento. Os resultados do presente estudo, não diferem dos observados por outros autores que relataram altas taxas de sobrevivência *in vitro* em espécies arbóreas, conforme Silveira *et al.* (2016) que obtiveram 93.3% de sobrevivência na germinação *in vitro* de *Calophyllum brasiliense*, enquanto, Silva *et al.* (2018) obtiveram 96.67% de sobrevivência na germinação *in vitro* de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. Com base nos resultados, esse desempenho evidencia a eficiência desses meios no suporte às exigências fisiológicas de sementes de Tinziva, garantindo condições apropriadas para o estabelecimento inicial *in vitro*.

Portanto esses resultados de sobrevivência tanto na germinação *ex vitro* quanto *in vitro*, tem implicações relevantes nos viveiros e reflorestamentos, pois garante um protocolo eficiente e seguro que sustenta alta taxa de mudas viáveis, aumentando a produtividade e reduzindo perdas. Além disso, assegura maior sucesso no estabelecimento das mudas no campo otimizando recursos financeiros e humanos, e contribui para restauração rápida e efectiva de áreas degradadas.

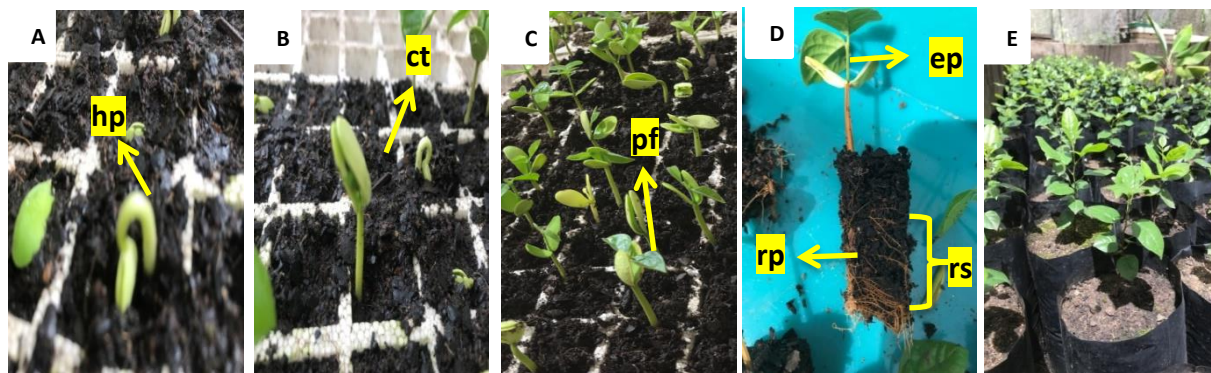


Figura 13. Aspecto visual de estágios de desenvolvimento de plântulas *ex vitro* de Tinziva. Na ordem, desenvolvimento do hipocótilo e desprendimento do tegumento (A), emissão dos cotilédones (B), abertura dos cotilédones e emissão de folhas (C), plântulas já com folhas e raízes modificadas (D), planta desenvolvida (E). Legenda: hp - Hipocótilo; ct - cotilédones; pf- Primórdios foliar; rp – Raiz principal; rs – Raízes secundárias; ep – Epicótilo.



Figura 14. Aspecto visual da germinação *in vitro* de Tinziva: Plântulas no meio MS (A); Plântulas no meio WPM (B); Plântulas já com folhas e raízes modificadas (C); Plantas aclimatizadas em substrato orgânico (Coco mix e Buskompst) (D).

5. CONCLUSÕES

Nas condições em que foram realizados estes experimentos, pode-se concluir que:

- A germinação das sementes *ex vitro* ocorreu a partir do 12º dia para os tempos de escarificação por 5, 20 e 30 min, enquanto, na germinação *in vitro* ocorreu no 2º dia.
- Os tempos de escarificação por 10 min (68%) e 20 min (75%) apresentaram os melhores resultados de percentagem e velocidade de germinação, com valores de 0.53 e 0.66, respectivamente. Já no experimento *in vitro*, ambos meios MS e WPM proporcionaram 100% de germinação e velocidade de germinação de 3.8.
- Na germinação *ex vitro* a escarificação por 10 e 25 min apresentou os melhores resultados de crescimento em altura, área foliar e o número de raízes, enquanto, na experiência *in vitro*, ambos os meio MS e WPM, tiveram desempenhos semelhantes no crescimento das plântulas, com comprimento das raízes (6.5 cm) maior que o de *ex vitro* (4.5 cm). No experimento *ex vitro* mostrou correlações fortes entre área foliar com o número de raízes e a altura da plântula, enquanto, no experimento *in vitro* mostrou correlações fortes entre todas as variáveis.
- As melhores taxas de sobrevivência de plântulas produzidas *ex vitro* foram observadas na escarificação por 20 min (95%) e 10 min (96.3%). Enquanto, no experimento *in vitro* ambos os meios WPM e MS levaram a acima de 95% de sobrevivência das plântulas.

6. RECOMENDAÇÕES

Com base nos resultados e aprendizados do presente estudo, pode-se recomenda-se que:

- Para a época de sementeira e embebição das sementes de Tinziva em experimentos futuros, elas devem ser feitas em época quente chuvosa e manter as sementes durante um período de 72 horas em água para aumentar o sucesso de germinação conforme demonstrado em estudos anteriores.
- A escarificação de sementes Tinziva com ácido sulfúrico não deve ser prolongada (deve ser entre 10 a 25 min), devido ao seu potencial efeito corrosivo capaz de comprometer a viabilidade das sementes.
- No cultivo *in vitro* de Tinziva pode-se indicar, a utilização tanto do meio MS ou WPM para obtenção de resultados satisfatórios de germinação e sobrevivência das plântulas. Contudo, há que ter-se em conta custos operacionais deste método, tornando necessária a avaliação de sua viabilidade económica na produção de mudas de Tinziva.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbade, L.C. 2008. **Aspecto do cultivo *in vitro* de ipê-branco**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Albuquerque, K.S., Guimarães, R.M., Almeida, I.F., Clemente, A.C.S. 2007. **Métodos para a superação da dormência em sementes de Sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth)**. Ciênc. Agrotec. Lavras, v. 31, n. 6, p. 1716-1721, Nov./Dez.
- Alves, C.Z., Silva, J.B., Cândido, N.C.S. 2015. **Metodologia para a condução do teste de germinação em sementes de Goiaba**. Revista Ciência Agronômica, v. 46, n. 3, p. 615-621.
- Andrade, A.C.S., Loureiro, B.M., Souza, A.D. de O., Ramos, F.N. 1997. **Quebra de dormência de sementes de Sucupira-preta**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 32, n. 5, p. 465-469, Maio.
- Andrade, M.W., Luz, J.M.Q., Lacerda, A.S., Melo, P.R.A. 2000. **Micropropagação da Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All)**. Ciência Agro-técnica, Lavras, v. 24, n. 1, p.174-180.
- Awodoyin, R.O., Olubode, O.S., Ogbu, J.U. & Balogun, R.B. 2015. **Indigenous fruit trees of tropical Africa: Status, opportunity for development and biodiversity management**. Agricultural Sciences, v. 6, p. 31-41. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4236/as.2015.61004>.
- Ayadi, R., Hamrouni, L., Hanana, M., Bouzid, S., Trifi, M. & Khouja, M.L. 2011. ***In vitro* propagation and regeneration of an industrial plant Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.)**. Industrial Crops and Products, v. 33, n. 2, p. 474-480. Disponível em: DOI: <https://doi.org/10.1016/j>.
- Barbetta, P.A. 2006. **Estatística aplicada às ciências sociais**. Florianópolis: Editora da UFSC.
- Baskin, J.M. & Baskin C.C. 1998. **Greenhouse and laboratory studies on the ecological life cycle of *Dalea foliosa* (Fabaceae), a federal endangered species**. Nat. Areas Jour, v. 18, p. 54-62.
- Baskin, C.C. & Baskin, J.M. 2001. **Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. San Diego: Academic Press, 666 p.
- Baskin, C.C. & Baskin, J.M. 2014. **Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. Elsevier.
- Beltrame, R.A. & Lopes, J.C. 2011. **Utilização do ácido sulfúrico na germinação de sementes de *Joannesia princeps* Vellozo**. In: XV - Encontro latino-americano de iniciação científica e XI - Encontro latino-americano de pós-graduação., 2011. Universidade do Vale do Paraíba.

- Bertozzo, F. & Machado, I.S. 2010. **Meios de cultura no desenvolvimento de ápices caulinares de Mamoneira (*Ricinus communis* L.) *in vitro***. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 34, n. 6.
- Benincasa, M.M.P. 2003. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. Jaboticabal: Funep, 2.ed, p.41.
- Bewley, J.D. & Black, M. 1994. **Seeds: Physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press. 445p.
- Bhattacharya, J.D. & Khuspe, S.S. 2001. ***In vitro* and *in vivo* germination of papaya (*Carica papaya* L.) seeds**. Scientia Horticulturae, Amsterdam, v. 91, n. 1-2, p. 39-49.
- Borghetti, F. & Ferreira, A.G., 2004. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed. 323 p.
- Braga, F.T., Nunes, C.F., Favero, A.C., Pasqual, M., Carvalho, J.G. & Castro, E.M. 2009, **Características anatômicas de mudas de morangueiro micropropagadas com diferentes fontes de silício**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 44, n. 2, p. 128-132.
- Burrows, J.E., Burrows, S.M., Lotter, M.C. & Schmidt, E. 2018. **Trees and shrubs Mozambique**. Noordhoek, Cape Town: Publishing Print Matters (Pty) Ltd,
- Cardoso, V.J.M. 2009. **Conceito e classificação da dormência em sementes**. Oecologia Brasiliensis, v. 13, n. 4, p. 619-631. Disponível em: <https://doi:10.4257/oeco.2009.1304.06>.
- Carvalho, A.C.P.P. *et al.*, 2011. **Glossário de culturas de tecidos de plantas**. Plant cell culture and micropropagation, Lavras, v. 7, n.1, p. 30-60.
- Carvalho, M.A.F., Paiva, R., Vargas, D.P., Porto, J.M.P., Herrera, R.C. & Stein, V.C. 2012. **Germinação *in vitro* de *Passiflora gibertii* N.E. Brown com escarificação mecânica e ácido giberélico**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 33, n. 3, p. 1027-1032.
- Cassells, A.C. 1991. **Problems in tissue culture: Culture contamination**. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant, v. 27, n. 2, p. 69-74.
- Castro, M.I.S., Venial, L.R., Pinheiro, P.R., Silva, A.M.V. & Dutra, A.S. 2024. **Análise da relação linear entre parâmetros de vigor das sementes de feijão caupi usando a correlação de Pearson**. In: XXVIII Encontro latino-americano de iniciação científica, XXIV encontro latino-americano de pós-graduação e XIV encontro de iniciação à docência. Universidade do Vale do Paraíba.
- Chen, S.Y., Chien, C.T., Chung, J.D., Yang, Y.S. & Kuo, S.R. 2007. **Dormancy-break and germination in seeds of *Prunus campanulata* (Rosaceae): Role of covering layers and changes in concentration of abscísico acid and gibberellins**. Seed Science, Wallington, v. 17, n. 1, p. 21-32, Mar.
- Cipriani, V.B., Garlet, J., Lima, B.M. 2019. **Quebra de dormência em sementes de *Chloroleucon acacioides* e *Senna macranthera***. Revista de Ciências Agrárias, Lisboa, v. 42, n.1, p. 49-54.

Costa Júnior, O.D.da. 2020. **Germinação *in vitro* de sementes e de embriões zigóticos maduros de cultivares de videiras (*Vitis spp.*)**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agro-pecuária. Campos dos Goytacazes, RJ.

Costa, P.A., Lima, A.L.S., Zanella, F. & Freitas, H., 2010. **Quebra de dormência em sementes de *Adenantha pavonina* L.** Goiânia-Brasil, v. 40, n. 1, p. 83-88, Jan./Mar.

Damião Filho, C.F. & Môro, F.V. 2001. **Morfologia externa de espermatófitas.** Jaboticabal: Funep. 101p.

Daneshvar, M.H. 2019. ***In vitro* and *in vivo* seed germination of *Ficus religiosa* L.** In: 9th Congress of Iranian horticulture science., 2019, September.

Debnath, S.C. 2005. **Micropropagation of Small Fruits: Commercial application and long-term stability of *in vitro* derived plants.** In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant, v. 41, n. 6, p. 683-692.

Dias, C.R.G., Vinjunju, M.S.R., Serrote, C.M.L.S. & Mussalama, A.Z. 2022. **Métodos alternativos para superação de dormência em sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Witt.** Revista Thema, v. 21, n. 1, p. 224-235. Disponível em: DOI: <http://dx.doi.org/10.15536/thema.V21.2022.224-235.2376>.

Du Plessis, H.J., Kleynhans, R., Nikolova, R.V. & Egan, B.A. 2020. ***In vitro* seed germination and seedling performance of *Hibiscus coddii* subsp. *Barnardii*.** Ornamental Horticulture, v. 26, n. 4, p. 598-606.

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agro-pecuária. 2003. **Noções de cultivo de tecidos vegetais.** Campina Grande: Embrapa Algodão. Documentos, 116. 39p.

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agro-pecuária. 2010. **Produção de mudas: Principais técnicas utilizadas na propagação de fruteiras.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados.

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agro-pecuária. 2012. **Dormência em sementes de hortaliças.** Brasília: Embrapa. ISSN 1415-2312, 28 p.

Fachinello, J.C., Nachtigal, J.C., Hoffmann, A. 2005. **Propagação por sementes.** In: Fachinello, J.C., Nachtigal, J.C., Hoffmann, A. (Ed.). Propagação de plantas frutíferas. Brasília. DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 57-67.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2004. **A guide to forest seed handling.** Rome: FAO.

Fernandes, L.A.V., Miranda, D.L.C., Sanqueta, C.R. 2007. **Potencial alelopático de *Merostachys multiramea* Hackel sobre a germinação de *Araucaria angustifolia* (Bert.) Kuntze.** Revista Acadêmica, v. 5, n. 2, p. 139-146, Abr./Jun. Curitiba, PR.

- Ferreira, C.A.R., Figliolia, M. B., Roberto, L.P.C. 2007. **Ecofisiologia da germinação de sementes de *Calophyllum brasiliensis* Camb.** Instituto Florestal Série Registros, São Paulo, n. 31, p. 173-178, Jul.
- Ferreira, M. & Santos, P.E.T. 1997. **Melhoramento Genético do Eucalyptus no Brasil: Breve histórico e perspectivas.** In: Iufro conference on silviculture na improvement eucalyptus, Colombo: Embrapa-CNPq, v.1, p. 178-182.
- Fowler, J.A.P & Bianchetti, A. 2000. **Dormência em sementes florestais.** Colombo: Embrapa Florestas. Documentos, 40. 27p.
- Gazola, B., Júnior, A.P., Nunes, J.G.S., Garcia, E. 2015. **Efeito da quebra de dormência com ácido sulfúrico e água fervente no crescimento inicial Guapupuvu.** Departamento de Engenharia – Faculdade Integrada de Ourinhos (FIO/FEMM).
- George, E.F., Hall, M.A. & De Klerk, G.J. 2008. **Plant propagation by tissue culture.** 3.ed ed. Springer.
- Gomes Júnior, R.G. 2011. **Germinação e estabelecimento *in vitro* de *Crambe abyssinica* Hochst (Brassicaceae).** TCC (Bacharel) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre.
- Guerra, M.P., Nodari, R.O., Fraga, H.P.F., Vieira, L.N. & Fritsche, Y. 2016. **Apostila de Biotecnologia Vegetal.** Apostila de Biotecnologia I. 44p. Disponível em: <http://lfdgv.paginas.ufsc.br/files/2014/08/Apostila-Biotec-2016.1-Final.pdf>.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T. & Geneve, R.L. 2011. **Plant Propagation: Principles and practices,** 8.ed. Prentice Hall.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T. & Geneve, R.L. 2013. **Hartmann & Kester's Plant Propagation: Principles and practices,** 8.ed. Pearson.
- IIAM - Instituto de Investigação Agrária de Moçambique. 2024. **Agrometeorologia.** Maputo
- Kanashiro, S. 2005. **Nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e o crescimento de plântulas de *Aechmea blanchetiana* (Baker) *in vitro*.** Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Lisboa, A.C.O. 2017. **Germinação de sementes e desenvolvimento embrionário de *Corema álbum*, efeito dos tratamentos físicos e químicos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrônoma – Horto Fruticultura e Viticultura) – Universidade de Lisboa, Lisboa.
- Lopes, A.C.A. & Nascimento, W.M. 2012. **Dormência em sementes de hortaliças.** Brasília, DF: Embrapa Hortaliças. Documentos, 136. 28 p.
- Lopes, V.R. 2022. **Noções básicas de propagação de plantas.** Portugal.
- Machado, C. F., Oliveira, J. A., Davide, A. C., Guimarães, R. M. 2002. **Metodologia para a condução do teste de germinação em sementes de Ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson).** Revista Cerne, Piracicaba, SP, v. 8, n. 2, p. 17-25.

- Macia, F.P. 2011. **Efeito da profundidade na germinação das sementes de *Dialium schlechteri*, *Sclerocarya birrea* e *Strychnos spinosa* no viveiro**, Maputo: FAEF – UEM.
- Maguire, J.D. 1962. **Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedlings emergence and vigor**. Crop Science, Madison, v. 2, n. 1, p. 177.
- Marcos Filho, J. 2005. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. Piracicaba: Fealq. 488p.
- Martins, C.C., Bovi, M.L.A. & Spiering, S.H. 2009. **Umedecimento do substrato na emergência e vigor de plântulas de pupunheira**. Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal-SP, v. 31, n. 1, p. 224-230, Março.
- Montanari Júnior, I. 2008. **Aspectos da produção comercial de plantas medicinais nativas**. Disponível em: <http://www.cpqba.unicamp.br/plmed/artigos/producao.htm>. Acesso em: 16 Jul. 2025.
- Moraes, C.F., Suzin, M., Nienow, A.A., Grando, M.F., Mantovani, N., Calvete, E.O. & Donida, B.T. 2010. **Germinação *in vitro* de sementes de alcachofra**. Horticultura Brasileira, v. 28, n. 1, p. 64-69, Jan//mar.
- Mota, D.A., Araújo, K.V., Dobbss, L.B. 2018. **Escarificação ácida na superação de dormência de *Enterolobium schomburgkii***. Revista Agro Environmental Sciences, Palmas, v. 4, n. 2, p.16- 23.
- Moura, L.C., Titton, M., Miranda, N.A., Morreira, T.P. & Oliveira, M.L.R. 2012. **Multiplificação e alongamento *in vitro* de Vinhático (*Planthymenia reticulata*)**. Scientia Forestales, Piracicaba, v. 40, n. 96, p. 499-505.
- Msanga, H.P. 1999. **Laboratory Manual for Routine Seed Testing**. Morogoro: National Tree Seed Programme. Technical Note n^o.7. 120p.
- Nascimento, I.L., Alves, E.U., Bruno, R.L.A., Gonçalves, E.P., Colares, P.N.Q. & Medeiros, M.S. 2009. **Superação da dormência em sementes de Faveira (*Parkia platycephala* Benth.)**. Revista Árvore, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 35-45.
- Nassif, S.M.L., Vieira, I.G. & Fernades, G.D. 1998. **Factores externos (ambientais) que influenciam na germinação de sementes**. Informativo Sementes IPEF. Piracicaba: IPEF/LCF/ESALQ/USP. Disponível em: <Http://www.ipecf.br/sementes/>
- Negash, L. 2021. **A Selection of African Native Trees: Biology, uses, propagation and restoration techniques**. Addis Ababa-Ethiopia, 621 p. ISBN 978-99944-3-086-4.
- Nery, M.C., Carvalho, M.L.M., Oliveira, L.M., Nery, F.C. & Silva, D.G. 2008. **Noção *in vitro* e *ex vitro* de embriões/sementes *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich.** Cerne, Lavras-Brasil, vol. 14, n. 1, p. 1-8. Jan/Mar.
- Neto, A.C.A., Medeiros, J.G.F., Silva, B.B., Leite, R.P., Araújo, P.C. & Oliveira, J.J.F. 2012. **Ácido sulfúrico na superação da dormência de sementes de *Adenanthera pavonina* L.** Scientia Plena, Brasil, v. 8, n. 4.

- Noletto, L.G., Silveira, C.E. dos S. 2004. **Micropropagação de Copaíba**. Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, v. 33, p. 109-120.
- Oliveira, L. M., Davide, A. C., Carvalho, M.L.M. 2003. **Avaliação de métodos para quebra da dormência e para a desinfestação de sementes de Canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert)**. Revista Árvore, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 597-603.
- Pacheco Júnior, F. 2010. **Temperatura e luminosidade na germinação de sementes de *Piper hispidinervum***. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade do Acre. Rio Branco, 59f.
- Paiva, R. & Paiva, P.D.O. 2001. **Cultura de tecidos vegetais**. Lavras, MG: FAEPE/UFLA. 97p.
- Paiva, R., Gomes, G.A.C., Santana, J.R.F., Paiva, P.D.O., Dombroski, J.L.D. & Santos, B.R. 2002. **Espécies frutíferas com potencial econômico: Avanços no processo de propagação**. Informe Agro-pecuário, v. 23, n. 216, p. 78-84.
- Palgrave, M. 2002. **Trees of Southern Africa**, 3ed, Cape Town: Strik.
- Palmer, E. & Pitman, N. 1972. **Trees of Southern Africa**, vol. 2. Cape Town: Balkema
- Pergolotti, V., Marcellini, M., Contreras, E., Mezzetti, B., Gambardella, M., Capocasa, F. & Sabbadini, S. 2023. **Standardization of an in vitro seed germination protocol compared to acid scarification and cold stratification methods for different raspberry genotypes**. Horticulturae, v. 9, p. 153. Disponível em: <https://doi.org/10.3390>.
- Phillips, G.C. & Garda, M. 2019. **Plant tissue culture media and practices: An overview**. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, v. 55, n. 3, p. 242-257.
- Pierine, F.R., Gianini, F.P. & Pedroso-de-Moraes, C. 2019. **Germinação e crescimento de plântulas in vitro de *Muntingia calabura* L. (Muntingiaceae) submetida a diferentes meios de cultivo**. Heringia - Série Botânica, 74: e2019002. DOI: <https://doi.org/10.21826/2446-82312019v74e2019002>.
- Pinhal, H.F., Anastácio, M.R., Carneiro, P.A.P., Silva, V.J., Moraes, T.P. & Luz, J.M.Q. 2011. **Aplicações da cultura de tecidos vegetais em fruteiras do cerrado**. Ciência Rural, v. 41, n. 7, p. 1136-1142.
- Quinsen, R.C. & Angelo, P.C.S. 2008. **Manual de procedimentos do laboratório de cultura de tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 44p.
- Rego, M.M., Rego, E.R., Nattrodt, L.P.A., Finger, F.L. & Otoni, W. C. 2014. **Evaluation of different methods to overcome in vitro seed dormancy from yellow passion fruit**. African Journal Biotechnology, v. 13, p. 3657-3665.
- Rêgo, M.M., Araújo, E.R., Rêgo, E.R. & Castro, J.P. 2009. **In vitro seed germination of mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.)**. Revista Caatinga, Mossoró-Brasil, v. 22, n. 4, p. 34 – 38, Oct/Dez.

- Ribeiro, J.F., Fonseca, C.E.L., Melo, J.T., Almeida, S.P. & Silva, J.A. 1996. **Propagação de fruteiras nativas do cerrado**. In: Pinto, A.C. (org). Produção de mudas fruteiras sob condições do ecossistema de cerrado. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 55-80.
- Rolston, M.P. 1978. **Water Impermeable Seed Dormancy**. The Botanical Review. v. 44, n. 33, p. 365-396.
- Sakhanokho, H. F. 2009. **Sulfuric acid and hot water treatments enhance ex vitro and in vitro germination of *Hibiscus* Seed**. Research Gate.
- Salehi, M., Rezaei, M. & Ghasemi, M. 2020. **Influence of in vitro culture conditions on the growth and development of plantlets: A review**. Agronomy, v. 10, n. 7, p. 1006.
- Samanthi, P.W., Mohd Puad, A.M., Kumar, S.M., & Noraini, A.S. 2013. **In vitro shoot regeneration from leaf explants of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.)**. Sains Malaysiana, v. 42, n. 10, p. 1505 – 1510.
- Santo-Antônio, V. & Goulão, L.F. 2015. **Avaliação do estado actual do conhecimento sobre fruteiras nativas em Moçambique**. Matola: Instituto de Investigação Científica Tropical. 167p.
- Schober, P., Boer, C. & Schwarte, L. A. 2018. **Correlation coefficients: Appropriate use and interpretation**. Anesthesia & Analgesia, v. 126, n. 5, p. 1763 – 1768. Disponível em: <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000002864>.
- Silva, B.R.S., Bezerra, A. C., Pessoa, A.M.S., Cardoso, J.F., Alves, E.U. & Bruno, R.L.A. 2021. **Germinação e alterações anatômicas em sementes de *Erythrina velutina* Willd. escarificadas com ácido sulfúrico (H₂SO₄)**. Brazilian Journal of Development. Curitiba, v. 7, n. 1, p. 11092-11106. Jan. ISSN: 2525-8761. <https://doi:10.34117/bjdv7n1-759>.
- Silva, D., Imakawa, A.M., Bruno, F.M.S., Costa, S.S. & Sampaio, P.T.B. 2018. **In vitro propagation and seedling acclimatization of *Caesalpinia ferrea* Mart., a valuable medicinal plant in the Amazon (Fabaceae)**. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais, v. 13, n. 1, p. 57-65.
- Silva, G.R. 2019. **Produção, tecnologia e armazenamento de sementes**. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 192 p.
- Silva, M.J.E. 2003. **Aspectos fisiológicos da dormência em sementes**. Monografia (Graduação em Biologia) - Centro Universitário de Brasília: UniCEUB. Brasília.
- Silva, M.R.R., Bertolaia, M.C.B., Vanzela, L.S. & Vazquez, G.H. 2017. **Fosfogesso no crescimento de mudas de Mamão**. Cultura Agronômica, Ilha Solteira, v. 26, n. 1, p. 42-52.
- Silva, T.A., Oliveira, A.N., & Silva, L.F. 2017. **Crescimento de mudas de espécies arbóreas sob diferentes condições de luz**. Revista Árvore, v. 41, n. 2, e410206.
- Silveira, S.S., Degenhardt-Goldbach, J. & Quoirin, M. 2016. **In vitro seed germination and multiplication of *Calophyllum brasiliense***. Pesq.flor.bras. Colombo, v. 36, n.87, p. 185-193, Jul/Set.

Simitu, P., Jamnadass, R., Kindt, R., Kungu, J., Kimiywe, J. 2009. **Consumption of dryland indigenous fruits to improve livelihoods in Kenya, the case of Mwingi District.** Acta Horticulturae, v. 806, p. 93-98.

Simone, M. 2001. **Estudo de plantas medicinais em uso pelas comunidades locais no posto administrativo de Mahel e sua propagação.** In: Links project-FAO (eds.). Síntese dos trabalhos de teses e de investigação em Links existentes nas instituições de ensino superior e de pesquisa, 1990 – 2003., p. 88.

Soares, F.P. 2005. **Aspectos do cultivo *in vitro* da Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes).** Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 120 f.

Souza, M.M. & Marcos-Filho, J. 1994. **The role of seed coats in seed viability.** The Botanical Review, v. 60, n. 4, p. 426-439. Disponível em: <https://doi:10.1007/BF02857926>

Souza, E.B., Pacheco, M.V., Matos, V.P. & Ferreira, R.L.C. 2007. **Germinação de sementes de *Adenanthera pavonina* L. em função de diferentes temperaturas e substratos.** Revista Árvore, Viçosa, MG, n. 3, p. 437-443.

Stein, V.C., Paiva, R., Soares, F.P., Nogueira, R.C., Silva, L.C. & Emrich, E. 2007. **Germinação *in vitro* e *ex vitro* de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn.** Ciênc. Agrotec. Lavras, v. 31, n. 6, p. 1702-1708, Nov/Dez.

Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I.M., & Murphy, A. 2010. **Plant Physiology.** 5.ed., Sunderland: Sinauer Associates, p. 553.

Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I.M., & Murphy, A. 2017. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal.** 6.ed. Porto Alegre: Artmed. 888p.

Van Wyk, B. & Van Wyk, P. 1997. **Field guide to the trees of Southern Africa.** Cape Town: Struik.

Vieira, C.R., Araújo, M.M.V., Soares, J.S. & Veiga, B.C. 2021. **Escarificações químicas na superação de dormência de *Buchenavia Tomentosa*.** Revista de estudos ambientais (Online), v. 23, n. 1, p.6-15, Jan/Jun. Disponível em: <https://doi:10.7867/1983-1501>

Vieira, E.L. & Carvalho, Z. S. 2023. **Fisiologia de Sementes: Parte I – Formação e germinação de sementes.** Boletim Científico Agronômico do CCAAB/UFRB, v. 1, e2259. Disponível em: https://ufrb.edu.br/ccaab/bol_etim-cientifico-agronomicodo-ccaab-volume1/2259-2259.

8. ANEXOS

Análise de dados

Teste de Kruskal-Wallis

Ho: Todos as medianas são iguais

Ha: Pelo menos uma mediana é diferente

Anexo 1. Teste de Kruskal-Wallis de percentagem de germinação *ex vitro* de Tinziva

.Y.	Nº de observação	Estatística (χ^2)	Grau de liberdade	P-valor	Decisão
%G	175	25.9	6	0.00026	Rejeita Ho.

Anexo 2. Comparação de p-valor de percentagem de germinação *ex vitro* de Tinziva pelo teste de Dunn (0.05)

Grupos		P-valor	Diferença
T0	T1	0.00280	S
T0	T2	0.000128	S
T0	T3	0.0365	S
T0	T4	0.00399	S
T0	T5	0.00356	S
T0	T6	0.00574	S
T1	T2	1	NS
T1	T3	1	
T1	T4	1	
T1	T5	1	
T1	T6	1	
T2	T3	1	
T2	T4	1	
T2	T5	1	
T2	T6	1	
T3	T4	1	
T3	T5	1	
T3	T6	1	
T4	T5	1	
T4	T6	1	
T5	T6	1	

Anexo 3. Teste de Kruskal-Wallis do índice de velocidade de germinação *ex vitro* de Tinziva

.Y.	Nº de observação	Estatística (x^2)	Grau de liberdade	P-valor	Decisão
IVG	175	25.88	6	0.00025	Rejeita Ho.

Anexo 4. Comparação de p-valor do índice de velocidade de germinação *ex vitro* de Tinziva pelo teste de Dunn (0.05)

Grupos		P-valor	Diferença
IVG0	IVG1	00206	S
IVG0	IVG2	0.000162	S
IVG0	IVG3	0.0418	S
IVG0	IVG4	0.00351	S
IVG0	IVG5	0.0451	S
IVG0	IVG6	0.00583	S
IVG1	IVG2	1	NS
IVG1	IVG3	1	
IVG1	IVG4	1	
IVG1	IVG5	1	
IVG1	IVG6	1	
IVG2	IVG3	1	
IVG2	IVG4	1	
IVG2	IVG5	1	
IVG2	IVG6	1	
IVG3	IVG4	1	
IVG3	IVG5	1	
IVG3	IVG6	1	
IVG4	IVG5	1	
IVG4	IVG6	1	
IVG5	IVG6	1	

Teste de normalidade

Ho: Os dados seguem uma distribuição normal

Ha: Os dados não seguem uma distribuição normal.

Anexo 5. Teste de normalidade (Shapiro Wilks) de percentagem de germinação *in vitro* de Tinziva

Tratamentos	Estatística (x^2)	P-valor	Decisão
MS	0.876	0.290	Não rejeita-se Ho
WPM	0.892	0.365	Não rejeita-se Ho

Anexo 6. Teste de normalidade (Shapiro Wilks) de velocidade de germinação *in vitro* de Tinziva

Tratamentos	Estatística (x^2)	P-valor	Decisão
MS	0.891	0.364	Não rejeita-se Ho
WPM	0.846	0.182	Não rejeita-se Ho

Teste de Homoskedasticidade

Ho: As variâncias dos grupos são iguais

Ha: As variâncias dos grupos não são iguais.

Anexo 7. Teste de Homoskedasticidade (Levene) de percentagem de germinação *in vitro* de Tinziva

Grupo	Grau de liberdade	Estatística (x^2)	P-valor	Decisão
%G	1	0.0233	0.8824	Não rejeita-se Ho

Anexo 8. Teste de Homoskedasticidade (Levene) de velocidade de germinação *in vitro* de Tinziva

Grupo	Grau de liberdade	Estatística (x^2)	P-valor	Decisão
IVG	1	0.009	0.9763	Não rejeita-se Ho

Teste t Student

Ho: As médias dos dois grupos são iguais

Ha: As médias dos dois grupos são diferentes

Anexo 9. Teste *t Student* de percentagem de germinação *in vitro* de Tinziva

.Y.	Group1	Group2	Intervalo de confiança	Estatística (x^2)	P-valor	Decisão
%G	MS	WPM	[-11.55306; 11.55306]	0	1	Não rejeita-se Ho

Anexo 10. Teste *t Student* de velocidade de germinação *in vitro* de Tinziva

.Y.	Group1	Group2	Intervalo de confiança	Estatística (x^2)	P-valor	Decisão
IVG	MS	WPM	[-4.94387; 5.06387]	0.02765	0.9786	Não rejeita-se Ho

Anexo 11. Ficha de recolha de dados diários de germinação *ex e in vitro* de Tinziva

TRATAMENTOS									
Ex vitro							In vitro		
Dias	T1 5min	T2 10min	T3 15min	T4 20min	T5 25min	T6 30min	Dias	MS	WPM
12	6	0	0	5	0	3	1	0	0
13	0	0	0	0	0	0	2	17	14
14	0	1	0	1	0	0	3	13	18
15	2	1	0	2	0	0	4	10	8
16	1	1	0	0	0	1	5	0	0
17	0	0	0	0	0	0	6	0	0
18	0	0	0	0	0	0	7	0	0
19	4	10	10	8	7	3	8	0	0
20	0	0	0	0	0	0	9	0	0
21	8	7	6	9	7	3	10	0	0
22	3	2	4	0	2	4	11	0	0
23	3	3	1	8	8	1	12	0	0
24	0	0	0	0	0	0	13	0	0
25	0	0	0	0	0	0	14	0	0
26	7	8	15	10	11	5	15	0	0
27	2	3	5	6	2	1	-	-	-
28	2	2	4	3	3	1	-	-	-
29	1	2	1	3	5	4	-	-	-
30	0	0	1	0	2	0	-	-	-
31	0	0	0	0	0	0	-	-	-
32	0	0	0	0	0	0	-	-	-
33	2	3	1	1	0	2	-	-	-
34	0	1	1	0	0	0	-	-	-
35	0	0	0	0	0	0	-	-	-
36	3	1	0	0	1	1	-	-	-
37	0	0	0	0	0	0	-	-	-
38	0	0	0	0	0	0	-	-	-
39	0	0	0	0	0	0	-	-	-
40	3	1	0	2	0	0	-	-	-
41	0	4	1	0	1	3	-	-	-
42	0	2	0	1	0	1	-	-	-
43	0	0	0	0	0	2	-	-	-
44	0	2	0	0	0	0	-	-	-
45	0	0	0	0	0	0	-	-	-