

Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp.¹

Tetrazolium test for evaluation of the physiological quality of seeds of *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

Ana Paula Medeiros dos Santos Rodrigues², Antonio Francisco de Mendonça Júnior², Salvador Barros Torres³,
Narjara Walessa Nogueira^{2*} e Rômulo Magno Oliveira de Freitas²

RESUMO - O objetivo do trabalho foi desenvolver procedimentos apropriados para a condução do teste de tetrazólio com o intuito de verificar a viabilidade de sementes de feijão-caupi. Foram avaliadas duas temperaturas, 35 e 40 °C; três concentrações de tetrazólio, 0,05; 0,075 e 0,1%; por três tempos, 90; 150 e 210 minutos. Paralelamente, foram conduzidos testes de germinação e emergência de plântulas, condutividade elétrica e envelhecimento acelerado, estabelecendo-se critérios para avaliação da viabilidade e vigor. As sementes foram tipificadas em dois grupos, viáveis e inviáveis, as quais apresentaram adequada relação com a emergência. A avaliação da viabilidade e vigor das sementes de feijão-caupi, por meio do teste de tetrazólio, é eficiente com o emprego do pré-condicionamento de imersão direta em água por 16 horas, a 25 °C, e utilização da solução de tetrazólio na concentração de 0,05%, por 210 minutos, na temperatura de 40 °C.

Palavras-chave: Feijão-caupi. Germinação. Vigor.

ABSTRACT - The aim of this study was to develop appropriate procedures for carrying out the tetrazolium test in order to verify viability in seeds of the cowpea. The following were evaluated: two temperatures, 35 and 40 °C; three concentrations of tetrazolium, 0.05, 0.075 and 0.1%; and three periods, 90, 150 and 210 minutes. At the same time, tests for germination, seedling emergence, electrical conductivity and accelerated aging were conducted in order to establish criteria for assessing viability and vigour. The seeds were divided into two groups, viable and nonviable, which displayed an appropriate relationship to emergence. Evaluation of the viability and vigour of cowpea seeds by means of the tetrazolium test is efficient after preconditioning by direct immersion in water for 16 hours at 25 °C, and when using a tetrazolium solution at a concentration of 0.05% for 210 minutes at 40 °C.

Key words: Cowpea. Germination. Vigor.

DOI: 10.5935/1806-6690.20150048

*Autor para correspondência

¹Recebido para publicação em 31/03/2014; aprovado em 15/04/2015

Parte de um Projeto de Pesquisa que contou com apoio financeiro do CNPq e apoio logístico do Departamento de Ciências Vegetais/DCV/Universidade Federal Rural do Semi-Árido/UFERSA, Mossoró-RN

²Departamento de Ciências Vegetais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido/UFERSA, Caixa Postal 137, Mossoró-RN, Brasil, 59.625-900, anapaulamsr@yahoo.com.br; mendoncajr@ufersa.edu.br; narjarawalessa@yahoo.com.br; romulomagno_23@hotmail.com

³Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte, Caixa Postal 137, Mossoró-RN, Brasil, 59.625-900, sbtorres@ufersa.edu.br

INTRODUÇÃO

O feijão-caupi, feijão-de-corda ou feijão-macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), se destaca como uma das mais importantes fontes de proteínas para milhares de pessoas, em diversos países principalmente na África, na Índia e na América Tropical. É cultivado principalmente para a produção de grãos, secos ou verdes, visando o consumo humano *in natura*, na forma de conserva ou desidratado, sendo ainda utilizado como forragem verde, feno, silagem, farinha para alimentação animal, como adubo verde e proteção do solo (DUTRA; TEÓFILO, 2007). No Brasil, o feijão-caupi é cultivado em pequenas áreas da Amazônia, e predominantemente na região Nordeste, onde a cultura apresenta grande importância socioeconômica, se caracterizando como a principal cultura de subsistência do sertão Semiárido (SILVA, 2005).

A utilização de testes rápidos para avaliar a qualidade das sementes é importante, principalmente, para agilizar decisões quanto ao manejo de lotes durante as etapas de pós-colheita das sementes. Os testes que demandam períodos de tempo curto fundamentam-se nos eventos iniciais da deterioração, baseando-se na integridade das membranas celulares e na redução das atividades enzimáticas e respiratórias das sementes, como o teste de tetrazólio (DELOUCHE; BASKIN, 1973). Esse teste tem se mostrado como uma alternativa interessante pela qualidade e rapidez na determinação da viabilidade e do vigor da semente, permitindo obter resultados, de modo geral, em menos de 24 horas (DIAS; ALVES, 2008; FOGAÇA; MALAVASI; ZUCARELI, 2006).

O teste de tetrazólio baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases, particularmente a desidrogenase do ácido málico, que reduz o sal 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio nos tecidos vivos da semente, onde íons de hidrogênio são transferidos para o referido sal (DELOUCHE *et al.*, 1976). Quando a semente é imersa na solução de tetrazólio, esta se difunde através dos tecidos, ocorrendo nas células vivas, a reação de redução, resultando na formação de um composto vermelho, não difusível, conhecido como trifetilformazan, indicando haver atividade respiratória nas mitocôndrias e, conseqüentemente, que o tecido é viável (vivo). Tecidos mortos (não viáveis) não reagem com a solução conservando sua cor natural (LAZAROTTO; PIVETA; MUNIZ, 2011).

A avaliação da viabilidade das sementes pelo teste de tetrazólio é rotineiramente utilizada em programas de controle de qualidade para várias espécies, incluindo soja (FRANÇANETO; KRZYŻANOWSKI; COSTA, 1998), feijão-comum (KRZYŻANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA

NETO, 1999), milho (CHAMMA; NOVENBRE, 2007), melancia (BHERING; DIAS; BARROS, 2005), braquiária (NOVENBRE; CHAMMA; GOMES, 2006), tomate (SANTOS; NOVENBRE; MARCOS FILHO, 2007), café (ZONTA *et al.*, 2009), mamona (GASPAR-OLIVEIRA; MARTINS; NAKAGAWA, 2009), pepino (LIMA; PINTO; NOVENBRE, 2010), macaúba (RIBEIRO *et al.*, 2010), triticale (SOUZA *et al.*, 2010).

Diante do exposto, e da escassez de informações sobre a utilização desse método de análise para sementes de feijão-caupi, o trabalho teve como objetivo desenvolver procedimentos apropriados para a condução do teste de tetrazólio com o intuito de verificar a viabilidade de sementes dessa espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Ciências Vegetais (DCV/UFERSA), em Mossoró, RN. As sementes de feijão-caupi foram das cultivares BRS Guariba, BRS Marataoã e BRS Pujante, representadas cada uma por um lote proveniente da Embrapa Produtos e Mercado, Petrolina, PE, ano agrícola 2012/2013. As sementes foram homogeneizadas periodicamente e permaneceram embaladas em saco de papel multifoliado e armazenadas em câmara fria e seca a 10 °C e 50% de umidade relativa do ar durante o período de condução dos experimentos.

Os lotes foram caracterizados através da determinação do grau de umidade, dos testes de germinação, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, massa seca da plântula, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica, conforme descrição:

O grau de umidade foi determinado pelo método da estufa a 105 ± 3 °C, por 24 horas, utilizando-se duas subamostras de 10 g de sementes para cada cultivar (BRASIL, 2009), os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida).

Para o teste de germinação foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes para cada lote, semeadas em bandejas de plástico perfuradas no fundo, contendo areia lavada e esterilizada, umedecida com quantidade de água equivalente a 60% da capacidade de retenção e colocadas para germinar em ambiente de laboratório à temperatura de 25 °C. A avaliação foi realizada aos oito dias e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais, para cada cultivar (BRASIL, 2009).

No teste de emergência de plântulas também foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes para cada cultivar. As sementes foram semeadas em canteiros de 10 x 1,0 m, com 10 cm entre fileiras e 10 plantas/metro de fileira, contendo substrato terra/areia na proporção 1:1 e as irrigações sendo feitas sempre que necessário. No décimo dia após a semeadura foram computadas as plântulas emersas e os resultados expressos em porcentagem média de plântulas normais para cada cultivar (DUTRA; TEÓFILO, 2007).

O índice de velocidade de emergência (IVE) foi conduzido junto com o teste de emergência de plântulas, através de contagens diárias a partir da emergência da primeira plântula até o décimo dia após a semeadura. Foram consideradas emergidas as plântulas que apresentaram cotilédones acima do solo, em posição aberta, liberando as folhas primárias. O índice foi calculado conforme metodologia indicada por Maguire (1962).

O teste de envelhecimento acelerado foi conduzido de acordo com o método tradicional, utilizando-se 40 mL de água destilada como citado em Association of Official Seed Analysts (1983). Cada amostra de sementes (45 gramas) foi distribuída, formando cama única, sobre a superfície de tela metálica, suspensa no interior de caixa de plástico transparente (11 x 11 x 3 cm), contendo 40 mL de água destilada. As caixas foram mantidas em incubadoras tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*) reguladas a 42 °C, por 48 horas (DUTRA; TEÓFILO, 2007). Após o envelhecimento, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, como descrito anteriormente. As avaliações das plântulas normais foram realizadas no quinto dia após a semeadura (BRASIL, 2009).

O teste de condutividade elétrica foi realizado pelo método da condutividade de massa, conforme metodologia recomendada por Dutra, Medeiros Filho e Teófilo (2006). Quatro repetições de 50 sementes foram previamente pesadas (0,0001 g), colocadas em copo plástico contendo 200 mL de água destilada e deionizada e mantidas em B.O.D. à temperatura constante de 25 °C, durante 16 horas. Após este período, foi realizada a leitura da condutividade elétrica, em condutivímetro, modelo CD-21. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sementes.

Após a caracterização inicial, foram então definidas as metodologias para condução do teste de tetrazólio. Inicialmente, foram definidos procedimentos de preparo e coloração das sementes de feijão-caupi, sendo testado o umedecimento em papel “germitest” e a imersão das sementes diretamente em água, pelo período de 16 horas. Após a definição da melhor forma de pré-condicionamento, quatro repetições de 50 sementes de cada cultivar foram

pré-embebidas em água destilada durante 16 horas, à temperatura de 25 °C. Em seguida, as sementes foram submersas em solução de tetrazólio (TERTULIANO *et al.*, 2009), a 0,050 0,075 e 0,1%, sendo mantidas em B.O.D. durante 90; 150 e 210, a 35 e 40 °C, na ausência de luz para coloração. Após cada período, as sementes foram lavadas em água corrente e mantidas submersas em água até o momento da avaliação.

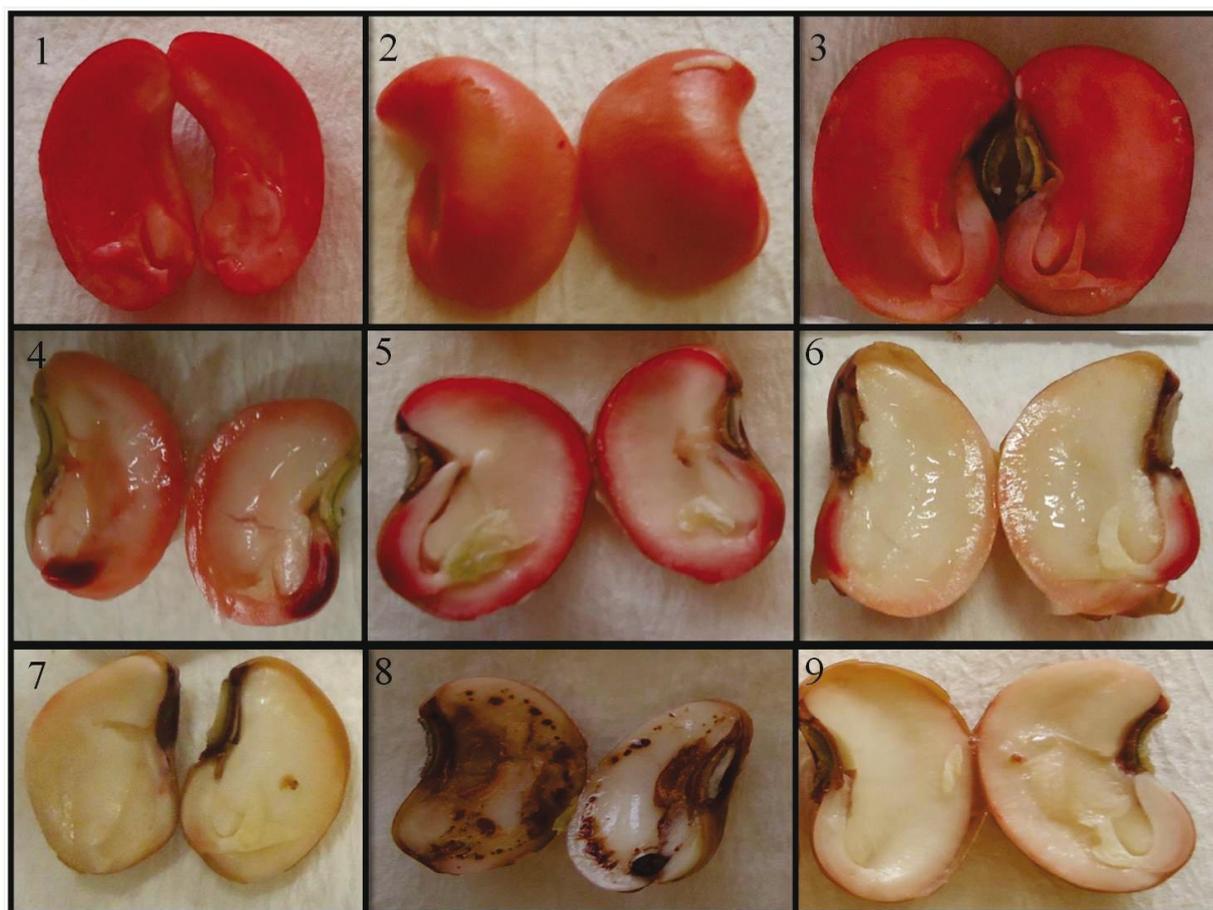
As sementes foram avaliadas individualmente externa e internamente após o seccionamento longitudinal entre os cotilédones, observando-se a ocorrência de danos nas faces interna e externa dos cotilédones e do eixo embrionário, verificando-se ainda a profundidade e a extensão de cada dano, se foi superficial ou afetou áreas internas e a sua distância em relação a áreas vitais e ao eixo embrionário. Posteriormente, as sementes foram agrupadas em sementes viáveis e não viáveis de acordo com os danos observados em suas estruturas.

As sementes foram tipificadas em dois grupos de viabilidade: Tipo 1, sementes viáveis, com tecidos firmes e coloração uniforme, em toda a extensão do embrião, sem que haja danos significativos para a germinação e o estabelecimento de plântulas normais; Tipo 2, sementes não viáveis, com danos que comprometem o desenvolvimento normal da plântula e sementes mortas, sem respiração detectada em nenhum dos tecidos do embrião ou, ainda, com lesões escuras, em adiantado estágio de deterioração (Figura 1).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Antes da análise estatística, os dados foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade de variância, para determinação da necessidade de transformação dos dados. Foi feita a análise de variância seguida pelo teste F para verificação dos efeitos de tratamentos. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grau de umidade inicial das sementes variou, no máximo, 0,8 pontos percentuais entre as cultivares (Tabela 1). Essa uniformidade é fundamental para a padronização das avaliações e a obtenção de resultados consistentes (MARCOS FILHO, 2005). Verificou-se, também, que grau de umidade das sementes envelhecidas, após o pré-condicionamento, ficou entre 22,6 e 24,4%. O grau de umidade das três cultivares foram semelhantes, com variação inferior à amplitude máxima aceita, que é de 3 a 4 pontos percentuais (KRZYZANOWSKI, VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999).

Figura 1 - Sementes de feijão-caupi consideradas viáveis (1-3), inviáveis (danos na radícula (4-6) e sementes mortas (7-9) pelo teste de tetrazólio**Tabela 1** - Umidade (inicial e pós envelhecimento acelerado - E. A.), germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE), envelhecimento acelerado (EA) de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), cv. BRS Guariba, BRS Pujante, BRS Marataoã

Cultivar ¹	Umidade		G (%)	IVG	E (%)	IVE	CE $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$	EA (%)
	Inicial (%)	E. A.						
Guariba	8,1	22,6	98,0 a	45,2 a	62,0 b	23,9 b	37,3 a	35,0 b
Pujante	8,7	24,4	97,0 a	41,8 a	87,0 a	36,4 a	19,9 b	36,0 ab
Marataoã	7,9	24,1	98,0 a	41,6 a	73,0 ab	28,5 ab	38,6 a	53,5 a
CV (%)	-	-	2,7	4,7	16,7	19,5	4,9	22,2

¹Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O teste de germinação e o índice de velocidade de germinação não detectou diferença significativa para a qualidade fisiológica para as cultivares estudadas. Todavia, os testes de emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência e condutividade elétrica, indicaram a cultivar Pujante como de melhor potencial fisiológico.

Os índices de velocidade de germinação e emergência são baseados no princípio que aquelas cultivares que apresentam maior velocidade de germinação e emergência são as mais vigorosas. Cultivares com porcentagens de germinação e emergência semelhantes, frequentemente mostram diferenças em suas velocidades de germinação

e emergência, caracterizando que existem diferenças de vigor entre elas (MARCARELLO; YAMASHITA; CARVALHO, 2012).

O mesmo comportamento foi verificado no teste de envelhecimento acelerado, o qual também apresentou a cultivar Guariba com qualidade fisiológica inferior às cultivares Marataoã e Pujante. Este resultado pode ser considerado consistente, uma vez que, temperatura e tempo utilizados, 42 °C por 48 horas, foram os mesmos preconizados Dutra, Medeiros Filho e Teófilo (2006), quando esta combinação possibilitou separação mais evidente dos diferentes níveis de vigor e viabilidade em feijão-caupi, respectivamente.

A avaliação inicial das cultivares foi importante para identificar aquelas com maior e menor potencial fisiológico, a fim de verificar a confiabilidade do teste de tetrazólio para essa finalidade (DEMINICIS; VIEIRA; SILVA, 2009).

Para o teste de tetrazólio, inicialmente, foram definidos os procedimentos mais indicados para o preparo e coloração das sementes de feijão-caupi. Verificou-se que, quando umedecidas em papel “germitest”, por um período de 16 horas, as sementes não apresentavam completa embebição. De modo que, a imersão das sementes diretamente em água, por igual período, se mostrou mais adequada, além de proporcionar maior maciez ao pericarpo, em comparação à hidratação feita com papel, o que facilitou o corte e a completa extração do pericarpo e do tegumento aderidos ao embrião. Silva

et al. (2013), ao trabalharem com sementes de girassol, também obtiveram melhores resultados com a hidratação por imersão direta em água, para condução do teste de tetrazólio. Grzybowski *et al.* (2012) e Santos *et al.* (2012), também utilizaram esse tipo de hidratação para realização do teste em cevada e amendoim, respectivamente.

Quando o teste de tetrazólio foi realizado em temperatura de 35 °C, por 90; 150 e 210 minutos, e concentração de 0,05; 0,075 e 0,1% da solução com tetrazólio, não houve separação das cultivares de acordo com a qualidade fisiológica das sementes preestabelecidas (Tabela 2). De acordo com Silva *et al.* (2013) a baixa concentração da solução, aliada a uma menor temperatura, pode ter provocado essa menor precisão na distinção da coloração dos tecidos, principalmente na região da plúmula, em que a coloração geralmente é menos intensa e dificulta a distinção entre tecidos vivos (colorido) e mortos (branco). Silva *et al.* (2013) e Souza *et al.* (2010) relataram dificuldades na avaliação de estruturas essenciais das sementes de girassol e titricale, respectivamente, quando utilizaram baixas concentrações e curtos períodos de tempo.

No entanto, nos tratamentos com concentração de 0,05% por 210 minutos e 0,075% por 150 minutos, ambas submetidas à temperatura de 40 °C, foi possível observar que o teste de tetrazólio detectou os diferentes níveis de qualidade fisiológica das sementes, tendo o tratamento com concentração de 0,05% por 210 minutos, a 40 °C possibilitado a separação das cultivares de forma semelhante à obtida nos testes de

Tabela 2 - Viabilidade de sementes de cultivares de feijão-caupi pelo teste de tetrazólio (%), sob diferentes períodos de coloração (90, 150 e 210 minutos), temperaturas (35 e 40 °C) e concentrações da solução de tetrazólio (0,05, 0,075 e 0,1%)

----- 35 °C -----									
Cultivar	----- 0,05% -----			----- 0,075% -----			----- 0,1% -----		
	90	150	210	90	150	210	90	150	210
Guariba	16,0 a	60,0 a	66,0 a	25,0 a	60,0 a	76,5 a	40,5 a	56,5 a	71,0 a
Pujante	5,5 b	28,0 b	43,5 b	30,5 a	37,5 b	54,5 b	22,5 b	50,5 a	66,0 a
Marataoã	6,0 b	20,0 b	47,0 b	4,0 b	40,5 b	54,0 b	16,5 b	46,5 a	5,0 b
CV (%)	31,49	13,09	9,88	21,72	14,74	7,29	30,63	9,93	14,91
----- 40 °C -----									
Guariba	52,0 a	61,5 a	61,0 b	56,5 a	55,5 b	59,0 b	49,5 a	49,5 a	43,0 b
Pujante	23,5 b	59,5 a	89,5 a	43,5 b	69,5 a	69,0 a	47,0 a	65,0 a	69,5 a
Marataoã	20,5 b	50,5 b	65,5 b	30,5 c	53,5 b	67,0 a	48,5 a	57,5 a	47,0 b
CV (%)	26,31	6,20	6,04	14,72	8,70	4,92	20,01	16,38	9,45

¹Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

emergência, condutividade elétrica e envelhecimento acelerado (Tabela 1), tendo-se identificado as cultivares de menor potencial fisiológico (Guariba e Marataoã). Essas informações corroboram com dados da literatura, uma vez que é comum encontrar trabalhos realizados com feijão comum e soja, utilizando concentrações de 0,075%, por um período de 150 a 180 minutos, a uma temperatura de 40 °C (CARVALHO; NOVEMBRE, 2012; MARCARELLO; YAMASHITA; CARVALHO, 2012; TERTULIANO *et al.*, 2009). De acordo com Silva *et al.* (2013), metodologias eficientes, com utilização de solução de tetrazólio em baixas concentrações, são importantes para otimizar a aplicação dos recursos dentro dos laboratórios e possibilitar a análise de mais amostras com menor custo.

CONCLUSÃO

A avaliação da viabilidade e vigor das sementes de feijão-caupi, por meio do teste de tetrazólio, é eficiente com o emprego do pré-condicionamento de imersão direta em água por 16 horas, a 25 °C, e utilização da solução de tetrazólio na concentração de 0,05%, por 210 minutos, na temperatura de 40 °C.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Wageningen: AOSA. 1983. 88 p. (Handbook on seed testing. Contribution, 32).
- BHERING, M. C.; DIAS, D. C. F. S.; BARROS, D. A. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 176-182, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ ACS, 2009. 395 p.
- CARVALHO, T. C.; NOVEMBRE, A. D. L. C. Comparação de métodos para avaliação de injúrias mecânicas em sementes de duas cultivares de soja. **Revista Brasileira Ciências Agrárias**, v. 7, n. 3, p. 372-379, 2012.
- CHAMMA, H. M. C. P.; NOVEMBRE, A. D. L. C. Teste de tetrazólio para as sementes de milho: períodos de hidratação e de coloração das sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 125-129, 2007.
- DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, v. 1, p. 427-452, 1973.
- DELOUCHE, J. C. *et al.* **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1976. p. 103.
- DEMINICIS, B. B.; VIEIRA, H. D.; SILVA, R. F. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Clitoria ternatea* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p. 54-62, 2009.
- DIAS, M. C. L. L.; ALVES, S. J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Panicum maximum* Jacq pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 3, p. 152-158, 2008.
- DUTRA, A. S.; MEDEIROS FILHO, S.; TEÓFILO, E. M. Condutividade elétrica em sementes de feijão caupi. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 37, n. 2, p. 166-170, 2006.
- DUTRA, A. S.; TEÓFILO, E. M. Envelhecimento acelerado para avaliar o vigor de sementes de feijão caupi. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 193-197, 2007.
- FOGAÇA, C. A.; MALAVASI, M. M.; ZUCARELI, C. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p.101-107, 2006.
- FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1998. 72 p.
- GASPAR-OLIVEIRA, C.M.; MARTINS, C.C.; NAKAGAWA, J. Método de preparo das sementes de mamoneira (*Ricinus communis* L.) para o teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 160-167, 2009.
- GRZYBOWSKI, C. R. S. *et al.* Viability of barley seeds by the tetrazolium test. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 1, p. 47-54, 2012.
- KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218 p.
- LAZAROTTO, M; PIVETA, G.; MUNIZ, M. F. B. *et al.* Adequação do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Ceiba speciosa*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1243-1250, 2011.
- LIMA, L. B.; PINTO, T. F. L.; NOVEMBRE, A. D. L. C. Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de pepino pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 60-68, 2010.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.
- MARCARELLO, A.; YAMASHITA, O. M.; CARVALHO, M. A. C. Qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro em função da aplicação foliar de cobalto e molibdênio. **Global Science Technology**, v. 5, n. 2, p. 121-132, 2012.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495 p.
- NOVEMBRE, A. D. L. C.; CHAMMA, H. M. C. P.; GOMES, R. B. R. Viabilidade das sementes de braquiaria pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p. 147-151, 2006.

RIBEIRO, L. M. *et al.* Critérios para o teste de tetrazólio na estimativa do potencial germinativo em macaúba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 4, p. 361-368, 2010.

SANTOS, J. F. *et al.* Optimising tetrazolium test procedures to evaluate the physiological potential of peanut seeds. **Seed Science and Technology**, v. 40, n. 2, p. 215-228, 2012.

SANTOS, M. A. O.; NOVEMBRE, A. D. L. C.; MARCOS FILHO, J. Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds. **Seed Science and Technology**, v. 35, n. 1, p. 213-223, 2007.

SILVA, G. S. Nematóides. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. (Ed.). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: EMBRAPA, 2005. cap. 13, p. 487-497.

SILVA, R. C. *et al.* Adaptação do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 1, p. 105-113, 2013.

SOUZA, C. R. *et al.* Tetrazolium test for evaluating triticale seed viability. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 163-169, 2010.

TERTULIANO, P. C. *et al.* Qualidade de sementes de feijão colhidas por colhedora autopropelida em sistema semimecanizado. **Engenharia Agrícola**, v. 29, n. 1, p. 81-90, 2009.

ZONTA, J. B. *et al.* Comparação de metodologias do teste de tetrazólio para sementes de cafeeiro. **Idesia**, v. 27, n. 2, p. 17-23, 2009.