

# USO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE ABOBRINHA<sup>1</sup>

DANIELA INÁCIO BARROS<sup>2</sup>, DENISE CUNHA FERNANDES DOS SANTOS DIAS<sup>3</sup>, MARIA CARMEN BHERING<sup>4</sup>, LUIZ ANTÔNIO DOS SANTOS DIAS<sup>5</sup>, EDUARDO FONTES ARAÚJO<sup>3</sup>

**RESUMO** – O trabalho teve como objetivo desenvolver metodologia apropriada para o uso do teste de tetrazólio em sementes de abobrinha, visando determinar a viabilidade e o vigor. Os seguintes procedimentos foram avaliados: umedecimento das sementes em papel toalha por 16 e 24h, a 25°C; imersão direta em água, em câmara BOD, a 40°C, por 15, 30 e 60 minutos para a remoção do tegumento e por mais 30 e 60 minutos para retirada da membrana que envolve o embrião. Os embriões foram então imersos em solução de tetrazólio a 0,05 e 0,075% por 30, 60 e 90 minutos, em câmara BOD, a 40°C, para coloração. Paralelamente, foram conduzidos testes de germinação e vigor, estabelecendo-se cinco classes de viabilidade e vigor. A metodologia desenvolvida foi aplicada a oito lotes, sendo aferida com os resultados dos testes de germinação, envelhecimento acelerado e emergência de plântulas em areia. O teste de tetrazólio mostrou-se eficiente para avaliar a viabilidade e o vigor das sementes de abobrinha. O método de pré-condicionamento mais eficiente foi imersão direta em água, a 40°C, por 30 minutos para a remoção do tegumento e por mais 30 minutos para a retirada da membrana interna. A coloração ideal dos embriões foi obtida após 60 minutos de imersão em solução de tetrazólio a 0,05 ou 0,075% a 40°C.

Termos para indexação: *Cucurbita pepo*, viabilidade, vigor, abóbora italiana.

## USE OF TETRAZOLIUM TEST FOR PHYSIOLOGICAL QUALITY EVALUATION OF SQUASH SEEDS

**ABSTRACT** – The objective of this research was to develop an appropriate tetrazolium methodology for viability and vigor evaluation of squash seeds. The following procedures were tested for pre-conditioning of the seeds: moistening in wet paper towel for 16 to 24h at 25°C; immersion in water for 15, 30 and 60 minutes at 40°C for tegument removal, and for 30 and 60 minutes for removal of the embryo surrounding internal membrane. The embryos were then immersed for 30, 60 and 90 minutes in 0.05 and 0.075% tetrazolium solution, at 40°C, for coloration. Each sample submitted to the tetrazolium test was also evaluated by the germination and seedling vigor tests and five viability and vigor classes were established. This procedure was applied to eight seed lots and the results were validated by the germination, accelerated aging and seedling emergence tests. The tetrazolium test was efficient in evaluating squash seed viability and vigor. The ideal procedure was seed immersion in water for 30 minutes at 40°C, for removal of the tegument followed by a further 30 minutes in water for the internal membrane removal. The ideal coloration was obtained after 60 minutes immersion in a 0.05 or 0.075% tetrazolium solution at 40°C.

Index terms: *Cucurbita pepo*, viability, vigor.

<sup>1</sup> Submetido em 28/05/2004. Aceito para publicação em 15/10/2005. Parte da dissertação apresentada a UFV, pela primeira autora, para a obtenção do título de ‘Magister Scientiae’ em Fitotecnia.

<sup>2</sup> Estudante de doutorado da UFPB, Departamento de Agricultura, Areia, PB. danyinacio@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Prof. Adjunto, D.S., Depto. de Fitotecnia da UFV, 36571-000, Viçosa –

MG. dcdias@ufv.br

<sup>4</sup> Pesquisador, M.S., Depto. de Fitotecnia da UFV, 36571-000, Viçosa – MG. mbhering@ufv.br

<sup>5</sup> Pesquisador, D.S., Depto. de Biologia Vegetal/BIOAGRO, UFV, 36571-000, Viçosa – MG. lasdias@ufv.br

## INTRODUÇÃO

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 e 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 (Delouche et al., 1976; França Neto et al., 1988; Costa e Marcos Filho, 1994).

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 trifenilformazan, indicando haver atividade respiratória nas mitocôndrias e, conseqüentemente, que o tecido é viável, ou seja, vivo. Tecidos mortos (não viáveis) não reagem com a solução conservando sua cor natural (Delouche et al., 1976; França Neto et al., 1999).

Diversos fatores podem interferir na obtenção de resultados satisfatórios no teste de tetrazólio, principalmente aqueles relacionados à metodologia de execução como, por exemplo, o preparo das sementes antes da coloração. Para facilitar a penetração da solução de tetrazólio o pré-condicionamento das sementes (umedecimento) e o corte são necessários para algumas espécies (Brasil, 1992). Nesta etapa, o período de tempo e a temperatura empregada para o pré-condicionamento são fatores importantes.

O período de tempo necessário para o desenvolvimento de coloração das sementes varia bastante entre as espécies. Delouche et al. (1976) afirmaram que sementes de uma mesma espécie ou até de um mesmo lote podem apresentar velocidade de coloração diferente. Geralmente, sementes velhas e deterioradas colorem mais rapidamente e desenvolvem coloração vermelho carmim. Um período muito longo de contato das sementes com a solução pode acarretar o desenvolvimento de coloração muito intensa, prejudicando a

interpretação do teste. A temperatura utilizada para o pré-condicionamento é outro fator importante, que pode ter efeito significativo na duração do teste. Ganhos significativos no tempo de execução do teste podem ser obtidos com o aumento da temperatura durante a etapa de pré-condicionamento, uma vez que temperaturas elevadas aumentam a velocidade de embebição da semente (Costa et al., 1998). Estes autores verificaram que o pré-condicionamento das sementes de soja por 6 horas a 41°C resultou em adequado padrão de coloração das sementes, permitindo uma interpretação tão segura quanto à obtida nas condições tradicionalmente recomendadas (16 horas a 25°C). Já a redução do tempo para 4 horas, a 41°C, afetou drasticamente o desenvolvimento de coloração nas sementes, não permitindo identificar com precisão as classes de vigor e viabilidade.

Outro aspecto importante é o uso de solução de tetrazólio na concentração adequada, que pode variar de 0,5 a 1,0% (Brasil, 1992). Trabalhos recentes com diversas espécies afirmam que o uso de solução a 0,075% permite o desenvolvimento de coloração ideal tanto nos tecidos vigorosos como não vigorosos (França Neto et al., 1999).

Apesar da sua importância, pela rapidez e precisão na determinação da viabilidade e do vigor, o teste de tetrazólio tem seu uso ainda restrito a poucas espécies como soja (França Neto et al., 1999), feijão (Bhering et al., 1999), milho (Dias e Barros, 1999), algodão (Vieira e Von Pinho, 1999), amendoim (Bittencourt et al., 1999), café (Araújo et al., 1997; Vieira et al., 1998) e braquiária (Dias e Alves, 2001). Na indústria de sementes de hortaliças, este teste ainda não tem uso generalizado, principalmente pela carência de informações sobre a metodologia mais adequada para as diferentes espécies.

O objetivo do trabalho foi desenvolver metodologia apropriada para o uso do teste de tetrazólio para determinar a viabilidade e o vigor em sementes de abobrinha.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Sementes, do Departamento de Fitotecnia, da UFV. Foram utilizadas sementes de lotes comerciais de abobrinha (*Cucurbita pepo*), híbrido Atlanta AG 303, híbrido Clarinda AG 135 e variedade Caserta. A caracterização da qualidade fisiológica dos lotes foi feita pelos seguintes testes:

**Germinação (TG)** – utilizou-se 200 sementes, em quatro subamostras de 50, semeadas em substrato de papel umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco (Brasil, 1992). Foram

confeccionados rolos que foram mantidos em germinador a 25°C. As avaliações foram efetuadas aos quatro e oito dias após a semeadura, computando-se as plântulas normais, anormais e sementes mortas. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais;

**Emergência de plântulas em areia (EPA)** – conduzido em casa de vegetação, com 200 sementes por lote, em quatro subamostras de 50, semeadas em bandejas plásticas contendo areia umedecida com quantidade de água equivalente a 70% da capacidade de retenção. Após a semeadura, as sementes foram cobertas com uma camada de cerca de dois centímetros de areia. As contagens foram efetuadas aos 15 dias após a semeadura, determinando-se a porcentagem de plântulas emergidas;

**Envelhecimento acelerado (EA)** – as sementes foram dispostas em camada única sobre a tela metálica acoplada ao interior de caixas plásticas gerbox, contendo, ao fundo, 40mL de água, conforme AOSA (1983). As caixas foram tampadas e mantidas em câmara BOD, a 41°C, por 48 horas. Após este período, as sementes foram colocadas para germinar conforme descrito para o teste de germinação, sendo a avaliação feita no quarto dia após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

**Teste de tetrazólio** - para a definição da metodologia mais adequada para a condução do teste de tetrazólio foram realizados testes preliminares visando determinar o método de pré-condicionamento e o período de tempo necessário para se obter coloração requerida para a avaliação das sementes de abobrinha.

As sementes foram submetidas aos seguintes métodos de pré-condicionamento para a remoção do tegumento: embebição em papel toalha umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco, durante 16 e 24 horas, em germinador a 25°C ou imersão direta em água, por períodos de 15, 30 e 60 minutos em câmara BOD, a 40°C. Após cada tratamento, o tegumento das sementes foi removido manualmente, fazendo-se um pequeno corte com estilete na extremidade do tegumento oposta ao eixo embrionário. Em seguida, foi realizada nova imersão em água, por mais 30 e 60 minutos, em câmara BOD, a 40°C, para a retirada da membrana fina (endosperma/perisperma) que envolve o embrião, seguindo Yim e Bradford (1998) e Welbaum (1999). Após cada período, esta membrana foi então removida com o auxílio de uma pinça, após se fazer um corte com estilete, na extremidade lateral da semente, de modo semelhante ao empregado para a remoção do tegumento.

Após este preparo, os embriões foram imersos em

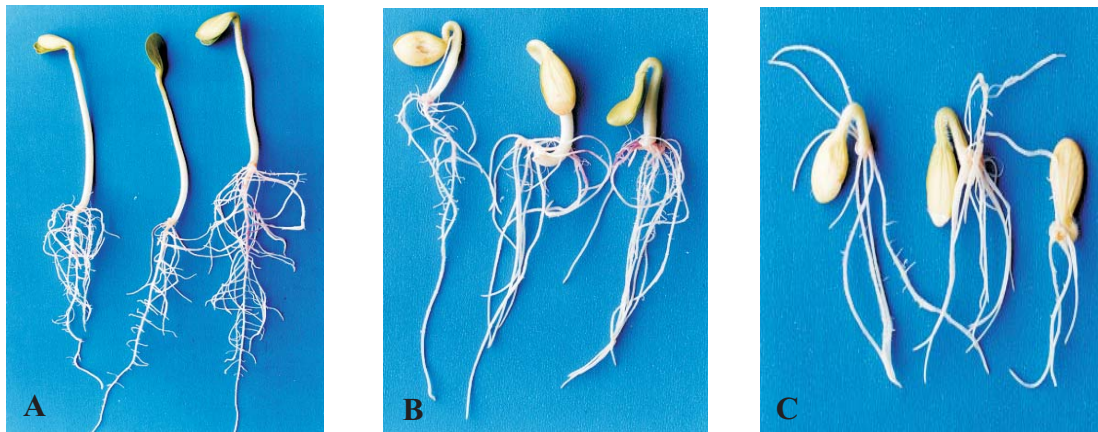
solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio a 0,05 e 0,075% durante 30, 60 e 90 minutos em câmara BOD, a 40°C, sob escuro para coloração. Após cada período, os embriões foram lavados em água corrente e mantidos submersos em água até o momento da avaliação.

Os embriões foram avaliados 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 de cada dano, ou seja, se foi superficial ou afetou áreas internas e a sua distância em relação a áreas vitais e ao eixo embrionário. Nas sementes de cucurbitáceas, as áreas vitais incluem o eixo hipocótilo-radícula e a região de inserção entre os cotilédones e o eixo.

Observou-se ainda, a diferenciação de cores dos tecidos, de acordo com os critérios estabelecidos por Moore (1985), ou seja, vermelho brilhante ou rosa brilhante (tecido vivo e vigoroso), vermelho carmim forte (tecido em deterioração) e branco leitoso ou amarelado (tecido morto).

Definida a metodologia mais adequada para o pré-condicionamento, preparo e coloração das sementes, esta foi aplicada às sementes de diferentes lotes, repetindo-a diversas vezes para a caracterização correta das principais alterações e sua associação com a viabilidade das sementes. Para tanto, de cada lote eram retiradas amostras de 200 sementes, que divididas em duas subamostras de 100, sendo uma delas submetida ao teste de tetrazólio e a outra avaliada quanto à germinação e ao vigor das plântulas, estabelecendo-se assim classes de viabilidade e vigor para o teste de tetrazólio em sementes de abobrinha. Para isto, cada semente foi classificada como viável ou não viável conforme coloração dos tecidos do embrião, presença e localização dos danos. Aquelas consideradas como viáveis, foram ainda classificadas em vigorosas e não vigorosas. Foram consideradas vigorosas as sementes que se apresentavam sem danos ou com lesões superficiais nos cotilédones, sendo capazes de originar plântulas normais fortes, ou seja, perfeitas, intactas e bem desenvolvidas no teste de germinação (Figura 1). As não vigorosas eram sementes que exibiam algum tipo de lesão, e que não eram capazes de originar plântulas normais fortes, ou seja, originavam plântulas normais fracas, as quais se apresentavam com pequenos defeitos (Figura 1). As sementes não viáveis eram aquelas que produziam plântulas anormais no teste de germinação (Figura 1).

Estabelecidas as classes de viabilidade e vigor, o teste de tetrazólio foi aplicado às sementes de abobrinha oriundas de oito lotes.



**FIGURA 1. Plântulas de abobrinha normais fortes (A), normais fracas (B) e anormais (C).**

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 que indicaram a não necessidade de transformação dos dados. A seguir os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Calcularam-se os coeficientes de correlação simples de Pearson ( $r$ ) entre os testes de tetrazólio (viabilidade e vigor), germinação, envelhecimento acelerado e emergência em areia. A significância dos valores de  $r$  foi determinada pelo teste  $t$ , a 1 e 5% de probabilidade (Gomes, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que, para a remoção do tegumento, a imersão direta das sementes em água a 40°C por 30 minutos mostrou-se como o método mais adequado, permitindo o amolecimento mais rápido do tegumento do que o umedecimento entre papel toalha. O tegumento foi removido manualmente após realizar-se um corte superficial, com estilete, na extremidade dos cotilédones oposta ao eixo embrionário. Verificou-se ainda que períodos superiores a 30 minutos de imersão em água não contribuíram para facilitar a remoção do tegumento. Portanto, a utilização de um tempo maior de embebição não foi interessante, uma vez que a imersão direta das sementes em água não deve ser feita por período de tempo excessivo, pois pode acarretar problemas

devido à redução na disponibilidade de  $O_2$  para as sementes comprometendo a sua qualidade e, conseqüentemente, podendo levar à obtenção de resultados incorretos (Costa, 1992).

Para a retirada da membrana fina interna ao tegumento e aderente ao embrião, o procedimento mais adequado foi imersão das sementes (sem o tegumento) em água, a 40°C por 30 minutos. A remoção desta membrana foi feita com o auxílio de uma pinça, após efetuar-se um corte superficial, com estilete, na extremidade lateral dos cotilédones. Uma vez retirada esta membrana, os embriões foram imersos em solução de tetrazólio para a coloração. Verificou-se que, coloração uniforme e coerente com as recomendações de Moore (1985) foi obtida quando as sementes foram imersas em solução de tetrazólio a 0,075% a 40°C, no escuro, por 60 minutos. Quando se utilizou a concentração de 0,05% os tecidos viáveis desenvolveram coloração rósea um pouco mais clara, não interferindo na interpretação. Em sementes de amendoim e melancia, Bittencourt e Vieira (1997), Dias et al. (2003), respectivamente, obtiveram resultados semelhantes para o teste conduzido com solução de tetrazólio a 0,075 e 0,1%, sendo que a menor concentração permitiu uma avaliação mais segura devido aos padrões de coloração mais uniformes.

Definida a metodologia de pré-condicionamento, preparo e coloração, estabeleceu-se as classes de viabilidade e vigor, utilizando-se como critérios a intensidade de coloração, a profundidade e a localização dos danos. Foram estabelecidas cinco classes de viabilidade e vigor e cada semente avaliada



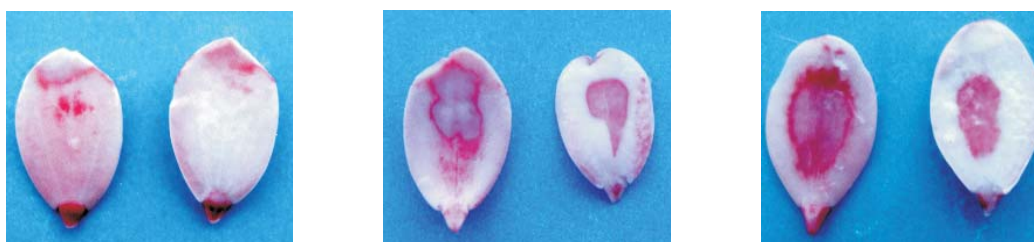
Classe 1. Sementes viáveis de alto vigor: tecidos com aspecto normal e firme, com coloração rosa claro brilhante, podendo exibir alguns pontos de coloração róseo mais intenso em áreas não críticas dos cotilédones, ou seja, distantes do ponto de ligação destes com o eixo embrionário, ocupando área inferior a 10% dos mesmos. Quando presentes, as lesões no eixo são superficiais (profundidade inferior a 0,5 mm).



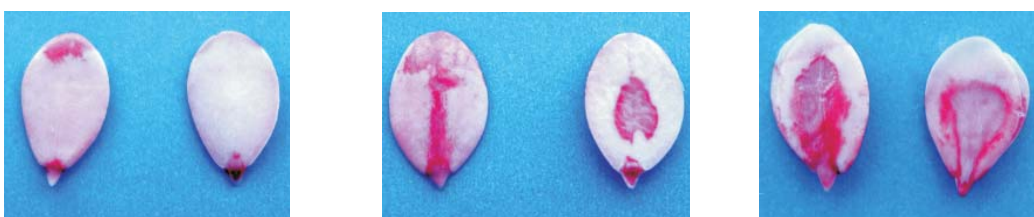
Classe 2. Sementes viáveis de baixo vigor: tecidos firmes com áreas de coloração rosa intenso ou com aspecto de mosaico, ocupando menos que 50% da área total dos cotilédones e ou do eixo embrionário.



Classe 3. Sementes viáveis não vigorosas: com coloração rosa intenso podendo tender a branco leitoso nos cotilédones e ou do eixo embrionário, ocupando área igual ou superior a 50% dos mesmos, mas não atingindo a região de ligação dos cotilédones com o eixo embrionário. Eixo embrionário pode apresentar áreas de cor rosa intenso.



Classe 4. Sementes não viáveis: com coloração róseo intenso na região de ligação dos cotilédones com o eixo embrionário. Manchas rosa intenso tendendo a branco leitoso nas superfícies externas e internas dos cotilédones se estendendo até a região de ligação destes com o eixo; presença de radícula completamente não colorida (branco leitoso) ou eixo embrionário totalmente róseo intenso tanto interna como externamente.



Classe 5. Sementes mortas: coloração róseo bastante intenso ou branco leitoso em toda sua extensão, ou ainda, com os cotilédones rosa intenso, mas com áreas já descoloridas, atingindo inclusive a região de ligação com eixo embrionário. Eixo totalmente branco leitoso.



Figura 2. Classes para a determinação da viabilidade e vigor de sementes de abobrinha.

foi qualificada em uma das classes (Figura 2). Para auxiliar no estabelecimento destas classes, foram considerados os resultados da porcentagem de germinação e o vigor das plântulas normais obtidas no teste de germinação (Figura 1), conduzido paralelamente ao teste de tetrazólio.

Na Tabela 1, encontram-se os resultados obtidos para os oito lotes de sementes de abobrinha submetidos aos testes de germinação, de envelhecimento acelerado, de emergência de plântulas em areia e de tetrazólio. Confrontando os resultados do teste de germinação com os de tetrazólio 1-3 (viabilidade) observa-se que houve coerência entre os dois testes, já que ambos indicaram menor qualidade fisiológica para as sementes do lote 2, agrupando os lotes 1, 4, 6 e 7, como os de maior qualidade, os quais não diferiram estatisticamente entre si. Examinando os resultados do teste de envelhecimento acelerado e comparando-os com os de tetrazólio 1-2, que avalia o vigor, observa-se que ambos os testes mostraram-se eficientes para classificar os lotes em níveis de vigor. Desta forma, pelo teste de envelhecimento acelerado, os lotes 1, 4 e 7 foram classificados como de alto vigor e o lote 2 como inferior aos demais, enquanto que pelo TTZ 1-2 os lotes 1, 4, 6 e 7 mostraram-se superiores permanecendo o lote 2 como de baixa qualidade fisiológica. Já a emergência de plântulas em areia não diferenciou os lotes em níveis de qualidade fisiológica, indicando o lote 2 como inferior aos demais e o lote 3 como de qualidade intermediária. Os demais lotes foram estatisticamente semelhantes.

Os valores dos coeficientes de correlação obtidos entre os resultados dos testes encontram-se na Tabela 2. Destacando os resultados obtidos nos testes de germinação e de tetrazólio viabilidade (1-3), verificou-se que houve correlação positiva e significativa ( $r = 0,81$ ) entre os mesmos. Pasha e Das (1982) consideraram o teste de tetrazólio seguro,

**TABELA 1. Valores médios (%) obtidos nos testes de germinação (TG), envelhecimento acelerado (EA), emergência de plântulas em areia (EPA) e tetrazólio viabilidade (TTZ 1-3) e vigor (TTZ 1-2), realizados em oito lotes de sementes de abobrinha.**

Lotes	TG (%)	EA (%)	EPA (%)	TTZ 1-3 (%)	TTZ 1-2 (%)
1	100,00 a	99,00 a	99,00 a	100,00 a	96,00 a
2	54,00 d	62,00 c	58,00 d	58,00 d	28,00 d
3	73,00 cd	51,00 c	75,00 bc	68,00 cd	49,00 c
4	96,00 ab	98,00 a	94,00 a	98,00 a	98,00 a
5	70,00 cd	54,00 c	89,00 ab	75,00 c	35,00 cd
6	97,00 ab	79,00 b	83,00 ab	97,00 a	81,00 ab
7	94,00 ab	96,00 ab	96,00 a	90,00 ab	73,00 b
8	79,00 bc	78,00 b	97,00 a	79,00 bc	49,00 c

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

**TABELA 2. Coeficientes de correlação simples de Pearson entre os resultados dos testes de germinação (TG), envelhecimento acelerado (EA), emergência de plântulas em areia (EPA) e tetrazólio viabilidade (TTZ 1-3) e vigor (TTZ 1-2), aplicados em oito lotes de sementes de abobrinha.**

Testes	TG	EA	EPA	TTZ 1-3	TTZ 1-2
TG	1,00	0,84**	0,67**	0,81**	0,81**
EA		1,00	0,78**	0,86**	0,82**
EPA			1,00	0,64**	0,53**
TTZ 1-3				1,00	0,92**
TTZ 1-2					1,00

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste t

confiável e apropriado para determinar o potencial de germinação do lotes de sementes de soja.

Para avaliação do vigor, houve correlação significativa entre os resultados de envelhecimento acelerado e tetrazólio 1-3 e 1-2. Alguns estudos têm mostrado que o teste de tetrazólio apresenta boa correlação com os diferentes testes de vigor (Pasha e Das, 1982; Barros e Marcos Filho, 1990). Em síntese, verifica-se que, coeficientes de correlação positivos e altamente significativos foram obtidos entre os resultados dos testes de tetrazólio (1-2) e (1-3) e os demais testes utilizados. Os menores coeficientes de correlação foram observados entre os resultados de tetrazólio e a porcentagem de emergência de plântulas em areia.

## CONCLUSÕES

O teste de tetrazólio pode ser utilizado para avaliar a viabilidade e o vigor de sementes de abobrinha. As sementes devem ser imersas em água, a 40°C por 30 minutos, para remoção do tegumento e por mais 30 minutos para a retirada da membrana interna. Para uma coloração ideal, os embriões devem ser imersos em solução de tetrazólio a 0,05 ou 0,075 % por 60 minutos, a 40°C.

## REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. 1983. 93p.
- ARAÚJO, R.F.; ALVARENGA, E.M.; LIMA, W.A.A.; DIAS, D.C.F.S.; ARAÚJO, E.F. O uso do teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Informativo ABRATES**, Londrina, v.7. n.1/2, p.109, 1997.
- BARROS, A.S.R.; MARCOS FILHO, J. Testes para avaliação rápida da viabilidade de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, n.10, p.1447-1459, 1990.
- BITTENCOURT, S.R.M.; VIEIRA, R.D.; RODRIGUES, T.J.D.

- Criteria for peanut seed pre-conditioning for the tetrazolium test. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.25, p. 337-342, 1997.
- BITTENCOURT, S.R.M.; VIEIRA, R.D. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de amendoim. In: KRZYANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. Cap. 8, p. 8.2-8.8.
- BHERING, M.C.; SILVA, R.F.; ALVARENGA, E.M.; DIAS, D.C.F.S.; PENA, M.F. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de feijão. In: KRZYANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina, ABRATES, 1999. Cap. 8, p. 8.3-8.10.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNPV/CLAV, 1992. 365p.
- COSTA, N.P. **Metodologia alternativa para o teste de tetrazólio em sementes de soja**. Piracicaba, 1992. 132f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992.
- COSTA, N.P.; MARCOS FILHO, J. O emprego do teste de tetrazólio na avaliação da qualidade da semente de soja. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 4, n. 2, p.53-62, 1994.
- COSTA, N.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A.; PEREIRA, J.E. Avaliação de metodologia alternativa para o teste de tetrazólio para sementes de soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.55, n.2, p.302-312, 1998.
- DELOUCHE, J.C.; BASKIN, N.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, p. 427-452, 1973.
- DELOUCHE, J.C.; STILL, T.W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103p.
- DIAS, D.C.F.S.; BHERING, M.C.; BARROS, D.I. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de melancia. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.13, n.3, p.174, 2003.
- DIAS, M.C.L.L.; ALVES, S.J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hoscst. Ex A.Rich) Stapf pelo teste de tetrazólio. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.11, n.2, p. 317, 2001.
- DIAS, M.C.L.L.; BARROS, A.S.R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de milho. In: KRZYANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. Cap. 8, p. 8.4-1 - 8.4.10.
- FRANÇA NETO, J.B.; PEREIRA, L.A.G.; COSTA, N.P.; KRZYANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1988. 60p.
- FRANÇA NETO, J.B.; KRZYANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja. In: KRZYANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. Cap. 8, p. 8.5-1 - 8.5.26.
- GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 14 ed. Piracicaba: Nobel, 2000. 477p.
- MOORE, R.P. **Handbook on tetrazolium testing**. Zürich: ISTA, 1985. 99p.
- PASHA, M.R.; DAS, R.K. Quick viability test of soybean seed by using tetrazolium chloride. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.10, n.2, p.651-655, 1982.
- VIEIRA, M.G.G.C.; PINHO, E.V.R.V. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. In: KRZYANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. Cap.8, p.8.1-8.13.
- VIEIRA, M.G.G.C.; GUIMARÃES, R.M.; PINHO, E.V.R.V.; GUIMARÃES, R.J.; OLIVEIRA, J.A. **Testes rápidos para determinação da viabilidade e da incidência de danos mecânicos em sementes de cafeeiro**. Lavras: UFLA, 1998. 34p. (Boletim Agropecuário, 26).
- WELBAUM, G.E. Cucurbit seed development and production. **Hort Technology**, v.9, n.3, p.341-348, 1999.
- YIM, K.O.; BRADFORD, K.J. Callose deposition is responsible for appoplastic semipermeability of the endosperm envelope of muskmelon seeds. **Plant Physiology**, Lancaster, v.118, p.83-90, 1998.

