

## VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Piptadenia moniliformis* Benth. PELO TESTE DE TETRAZÓLIO<sup>1</sup>

GILVANEIDE ALVES DE AZERÊDO<sup>2</sup>, RINALDO CESAR DE PAULA<sup>3</sup>, SÉRGIO VALIENGO VALERI<sup>3</sup>

RESUMO - O angico-de-bezerro (*Piptadenia moniliformis* Benth.) é espécie arbórea de alto valor apícola e recomendada para recuperação de solos, recomposição florestal, forragem para bovinos e ovinos e produção de madeira para pequenas obras de construção civil. Na área florestal, existem lacunas quanto à avaliação da qualidade fisiológica de sementes. Assim, objetivou-se neste trabalho adequar o teste de tetrazólio para a avaliação da viabilidade de sementes de angico-de-bezerro. Sementes de quatro lotes foram submetidas à escarificação em ácido sulfúrico durante 30 min e colocadas para embeber entre papel toalha, a 25 °C durante 24 horas. Após esse período retirou-se o tegumento das sementes e as mesmas foram imersas em solução de tetrazólio (0,05, 0,075 e 0,1%) por 2, 3 e 4 horas de coloração a 35 °C no escuro, utilizando quatro repetições de 25 sementes por tratamento. Com base na coloração os embriões foram classificados quanto à viabilidade. O teste de tetrazólio conduzido com embebição das sementes por 24 horas a 25 °C entre papel toalha, com retirada do tegumento das sementes e coloração por 4 horas em solução a 0,075%, a 35 °C, é eficiente para avaliar a viabilidade das sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth.

Termos para indexação: espécie florestal, germinação, testes rápidos.

### DETERMINING THE VIABILITY OF *Piptadenia moniliformis* Benth SEEDS WITH THE TETRAZOLIUM TEST

ABSTRACT - *Piptadenia moniliformis* Benth. is a tree species which is important for beekeeping, as well as being recommended for soil restoration, reforestation, wood production for small civil construction projects, and cattle and sheep forage. Information on how to evaluate seed physiological quality is still scarce and in this was the study aimed to adapt the procedures of the tetrazolium test to assess the viability of *P. moniliformis* seeds. Four seed lots were scarified in sulphuric acid for 30 min, and soaked between paper towels at 25 °C for 24 hours. The seed coat was then removed and the naked seeds immersed in tetrazolium solutions with concentrations of 0.05, 0.075 and 0.1% for 2, 3, and 4 hours, at 35 °C in the dark. Each treatment consisted of four replications of 25 seeds. The embryos were classified according to viability based on the staining patterns. The previous soaking of the seeds for 24 hours at 25 °C between paper towels, followed by the removal of the seed coat and staining of the naked seeds for 4 hours in a 0.075% tetrazolium solution at 35 °C, was the most efficient method for evaluating the viability of *P. moniliformis* Benth seeds.

Index terms: forest species, germination, rapid tests.

<sup>1</sup>Submetido em 24 /04 /2010. Aceito para publicação em 22 /09 /2010. Parte da Tese de Doutorado da primeira autora apresentada a UNESP/ FCAV, Campus de Jaboticabal.

<sup>2</sup>Eng. Agr., Profa. Adjunta da Universidade Federal do Tocantins. E-mail: azeredogil@yahoo.com.br .

<sup>3</sup> Eng, Florestais, Professores da UNESP - Univ Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Departamento de Produção Vegetal. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Jaboticabal, SP, 14884-900 – Bolsistas CNPq - E-mail: rcpaula@fcav.unesp.br, valeri@fcav.unesp.br

## INTRODUÇÃO

A avaliação da qualidade de sementes por meio de testes rápidos que proporcionem resultados reproduzíveis tem sido uma busca constante dos tecnologistas de sementes (Marcos Filho, 2005) e pode auxiliar na tomada de decisões quanto ao uso ou descarte de lotes, principalmente para espécies que demandam longo período para a germinação (Añez et al., 2007). Um dos testes que pode ser usado para esta finalidade é o de tetrazólio (França-Neto, 1999), que se baseia na alteração da coloração dos tecidos vivos na presença de uma solução do sal cloreto 2,3,5-trifenil tetrazólio. Segundo este autor, a alteração na coloração reflete a atividade das enzimas desidrogenases envolvidas na atividade respiratória nas mitocôndrias, especificamente a desidrogenase do ácido málico, que reduz o sal de tetrazólio nos tecidos vivos da semente, onde íons de hidrogênio são transferidos para o referido composto. A difusão do sal de tetrazólio nos tecidos vivos da semente resulta na formação de um composto estável e não-difusível de coloração avermelhada conhecido como trifetilformazan. Isso indica a atividade respiratória significativa nas mitocôndrias, permitindo delimitar, de maneira definida, o tecido que respira (vivo) e o que apresenta atividade fisiológica deficiente, pois este permanece descolorido ou exibe coloração anormal. Os tecidos acentuadamente deteriorados liberam quantidades muito pequenas de íons de hidrogênio, insuficientes para que ocorra a reação normal com o sal de tetrazólio (Marcos Filho, 2005). A formação de um vermelho carmim claro indica tecido viável e um vermelho carmim intenso revela o tecido em deterioração (Roversi e Theisen, 2005), em virtude da maior intensidade de difusão da solução de tetrazólio pelas membranas celulares comprometidas de tais tecidos; se o mesmo é não viável, a redução do sal não ocorrerá e o tecido morto contrastará como branco (não colorido) com o tecido colorido viável (França Neto, 1999). Consequentemente, o exame minucioso de cada semente e a avaliação das diferenças de coloração, a localização e a natureza dos distúrbios permitem obter uma estimativa da viabilidade das sementes (Marcos Filho, 2005).

A eficiência do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade das sementes depende de uma série de fatores que devem ser determinados para cada espécie, desde condições adequadas para a hidratação das sementes até a avaliação e interpretação do padrão de

coloração exibido pelas mesmas. Dentre os tratamentos de pré-condicionamento mais utilizados em sementes de espécies florestais estão a embebição em água (Mendonça et al., 2001; Oliveira et al., 2005a; Pinto et al., 2008) e a embebição entre papel (Mendonça et al., 2001; Oliveira et al., 2005b; Fogaça et al., 2006; Pinto et al., 2008). Além do pré-condicionamento que visa hidratar as sementes, provocando o amolecimento das mesmas facilitando o preparo e a penetração da solução de tetrazólio, bem como a ativação do sistema enzimático permitindo o desenvolvimento de coloração adequada para a interpretação da sua viabilidade; a forma de exposição dos tecidos à coloração (se com ou sem tegumento), a concentração da solução do sal de tetrazólio, a temperatura e o tempo de condicionamento e a avaliação adequada de coloração das sementes são fundamentais para que se obtenham resultados confiáveis sobre a qualidade das sementes.

A temperatura de 40 °C e a coloração por 2 e 4 horas na concentração de 0,25% da solução de tetrazólio foram eficientes para avaliação da viabilidade das sementes de *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudl (Mendonça et al., 2001). A concentração de 0,075% a 30 °C foi eficiente para avaliar o vigor e a viabilidade de sementes de *Senna multijuga* (Rich.) Irwin et Barn. e de *Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn., por 5 e 7 horas, respectivamente (Ferreira et al., 2004). Para sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert pode-se usar a concentração de 0,1% por 2,5 horas a 25 °C (Oliveira et al., 2005a).

O teste de tetrazólio é pouco usado para espécies arbóreas, embora seja promissor para rotinas de laboratório, uma vez que muitas dessas espécies necessitam de períodos longos para germinar (Piña-Rodrigues e Santos, 1988). Por determinar em poucas horas a viabilidade das sementes, agricultores e viveiristas podem se beneficiar das informações fornecidas pelo teste, auxiliando-os na tomada de decisões quanto ao desempenho do lote para produção das mudas. Embora o teste de tetrazólio possa fornecer informações rápidas e precisas quanto à viabilidade e vigor de sementes, tem como entrave à sua ampla difusão e adoção, a necessidade de profissional qualificado para a avaliação e interpretação do padrão de coloração das sementes. Os resultados ficarão comprometidos se o analista não tiver habilidade, paciência e experiência na identificação dos tecidos vivos e deteriorados.

Segundo Piña-Rodrigues e Valentini (1995), os

resultados de viabilidade obtidos no teste de tetrazólio podem ser maiores do que os obtidos no teste de germinação se as sementes forem dormentes, enquanto para sementes duras, a barreira à penetração do sal nos tecidos pode levar a uma subestimação dos resultados.

O angico-de-bezerro (*Piptadenia moniliformis* Benth.), pertencente à família Fabaceae, subfamília Mimosoideae, é uma espécie arbórea importante para o nordeste brasileiro, com alto valor apícola e recomendada para recuperação de solos, recomposição florestal, produção de madeira para pequenas obras de construção civil e de forragem para bovinos e ovinos. A emergência das plântulas ocorre em 2-3 semanas, porém a taxa de germinação é baixa (Maia, 2004) devido à impermeabilidade do tegumento à água, de ocorrência muito comum em Fabaceae (Kramer e Kozłowski, 1972; Nascimento e Oliveira, 1999). A precisão e rapidez do teste de tetrazólio permite utilizá-lo como alternativa para determinar a viabilidade das sementes de angico-de-bezerro, como ferramenta para diferenciar lotes com qualidades fisiológicas distintas e, ainda, para distinguir sementes deterioradas das dormentes. Segundo Costa et al. (2007), o emprego do teste de tetrazólio em programas de controle de qualidade é indispensável para tomada de decisão quanto à avaliação do potencial fisiológico de um lote de sementes.

Como o teste de germinação é demorado e os tratamentos para superar a dormência podem não informar a real qualidade do lote, além de poder danificar sementes viáveis, é importante que se tenham metodologias mais confiáveis para avaliar a qualidade das sementes em menor tempo. Neste contexto, o teste de tetrazólio pode ser realizado em sementes dormentes presentes no final do teste de germinação (Dias e Alves, 2008).

Diante do exposto, neste trabalho foi objetivo avaliar diferentes concentrações do sal de tetrazólio e períodos de coloração de sementes, para determinação da viabilidade e diferenciação de lotes de sementes de angico-de-bezerro.

## MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Sementes e Melhoramento Florestal da UNESP/Jaboticabal – SP, com sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. (angico-de-bezerro) coletadas de várias árvores matrizes localizadas no município de Campo Grande do Piauí – PI.

Foram utilizados quatro lotes de sementes, diferenciados quanto à coloração do tegumento, condições de armazenamento e ano de colheita. Os lotes 1 (tegumento com coloração escura) e 2 (tegumento com

coloração clara) foram colhidos em outubro de 2006 e armazenados em câmara fria ( $8 \pm 2$  °C,  $60 \pm 5\%$  UR) por dois anos; o lote 3 (tegumento sem coloração definida) foi colhido em outubro de 2006, armazenados por um ano em recipiente de plástico, sob as condições ambientais do município de procedência das sementes e por mais um ano em câmara fria ( $8 \pm 2$  °C,  $60 \pm 5\%$  UR) e o lote 4 (tegumento com coloração vermelha) foi colhido em novembro de 2007 e armazenado em câmara fria ( $8 \pm 2$  °C,  $60 \pm 5\%$  UR) por um ano. Antes da condução do teste, as sementes foram escarificadas com ácido sulfúrico concentrado (96% p.a.) durante 30 minutos (Azerêdo et al., 2010), lavadas em água corrente por cinco minutos e mantidas sobre folhas de papel toalha por três dias para secagem e uniformização do teor de água.

A partir de resultados obtidos em testes preliminares relacionados à hidratação e preparo das sementes, estas foram colocadas para embeber entre papel toalha, em germinador a 25 °C durante 24 horas e, posteriormente, com o auxílio de uma lâmina de aço foi feito um corte superficial na extremidade oposta à micrópila para retirada do tegumento das sementes, pois em testes preliminares, sementes com o tegumento não desenvolveram coloração. As sementes sem o tegumento foram submetidas à coloração usando-se três concentrações do sal cloreto 2,3,5 trifênil tetrazólio (0,05, 0,075 e 0,1%) por períodos de 2, 3 e 4 horas a 35 °C, no escuro. Após esses períodos, os embriões foram lavados em água corrente e mantidos em água a 25 °C, por aproximadamente 50 minutos, até a avaliação da coloração. Por ocasião da avaliação, os cotilédones foram separados, examinando-se apenas o que continha o eixo embrionário. Com base na extensão e intensidade da coloração e da presença de áreas brancas leitosas em relação às áreas essenciais ao desenvolvimento (eixo hipocótilo-radícula e região vascular), os embriões foram individualmente classificados em viáveis ou inviáveis de acordo com padrões indicados por Moore (1972).

Paralelamente, foi conduzido um teste de germinação para comparação dos resultados com as estimativas de viabilidade obtidas com o teste de tetrazólio. O teste de germinação foi conduzido a 25 °C, com fotoperíodo de 8 horas, em caixas transparentes de plástico (gerbox), entre folhas de papel de filtro, sendo duas folhas na base e uma sobre as sementes, umedecidas com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato não hidratado, conforme recomendações de Azerêdo (2009). O critério utilizado para a germinação das sementes foi o

desenvolvimento de plântulas normais (Brasil, 1992).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado seguindo um esquema fatorial  $3 \times 3 + 1$  (3 concentrações da solução de tetrazólio  $\times$  3 períodos de coloração + 1 testemunha – teste de germinação), para cada lote. Os dados, por não apresentarem distribuição normal, foram transformados em arcoseno  $\sqrt{x/100}$ , em que  $x$  representa a porcentagem de germinação ou de sementes viáveis. As médias de sementes viáveis obtidas pelo teste de tetrazólio foram comparadas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e a comparação entre as médias de sementes viáveis para cada uma das combinações no teste de tetrazólio com os resultados do teste de germinação (testemunha) foi realizada pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ), conforme recomendações de Banzatto e Kronka (2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo ( $p \leq 0,01$ ) dos fatores concentração da solução de tetrazólio e período de coloração para todos os lotes, e da interação entre esses fatores para os lotes 2 e 3 (Tabela 1). Entretanto, houve diferença significativa entre as estimativas de viabilidade das sementes obtidas pelo teste de tetrazólio e os resultados do teste de germinação, conforme pode ser observado pela significância do contraste testemunha vs fatorial.

Para o lote 1, a estimativa da viabilidade das sementes foi maior à medida em que aumentou o período de coloração das sementes e a concentração da solução de tetrazólio, embora sem diferença significativa entre as concentrações de 0,1 e 0,075% (Tabela 1). Observou-se, ainda, que as estimativas de viabilidade das sementes não diferiram estatisticamente dos resultados do teste de germinação (testemunha – 94%), nas concentrações de 0,075 (91%) e 0,1% (92%) no período de quatro horas.

Para o lote 2, o período de quatro horas em todas as concentrações proporcionou maiores estimativas de viabilidade das sementes em relação aos demais períodos, sendo que os valores mais elevados foram registrados nas concentrações de 0,1 e 0,075% (Tabela 1). O período de quatro horas nas concentrações de 0,1 (87%) e 0,075% (89%) foi favorável à avaliação da qualidade das sementes, proporcionando estimativas estatisticamente iguais aos resultados do teste de germinação (89%).

Em relação ao lote 3, o período de quatro horas de coloração proporcionou as maiores estimativas de viabilidade, independentemente da concentração da solução de tetrazólio, exceto a 0,05% cuja estimativa não

diferiu do período de 3 horas (Tabela 1). As estimativas de viabilidade diferiram entre as concentrações para cada período de coloração. A viabilidade estimada com quatro horas de coloração nas concentrações de 0,075 (68%) e 0,05% (56%) não diferiu dos resultados do teste de germinação (69%). Dentre os lotes testados, este foi o que propiciou os menores valores de viabilidade, como também os menores valores de germinação. A maior quantidade de sementes deterioradas foi, também, encontrada neste lote. Como este ficou armazenado por um ano sob as condições ambientais da região de origem (Campo Grande do Piauí - PI), cujo clima é semiárido e quente com temperaturas máximas em torno de 39 °C (IBGE, 1977), possivelmente, isso contribuiu para a redução de sua qualidade fisiológica.

Esses resultados reforçam as afirmações de Oliveira et al. (2005a), de que o uso de lotes de sementes com qualidades fisiológicas distintas para o desenvolvimento de metodologia de um determinado teste é de fundamental importância devido às diferentes respostas encontradas entre lotes para um mesmo tratamento.

Para o lote 4, os resultados obtidos no teste de tetrazólio foram semelhantes aos do lote 1, em que com o aumento do período de coloração ou da concentração da solução de tetrazólio, houve incremento nas estimativas de viabilidade das sementes, porém sem diferença estatística entre as concentrações 0,1% e 0,075% (Tabela 1). A viabilidade das sementes obtida com 3 horas (84%) e 4 horas (91%) de coloração na concentração de 0,1% e com 4 horas (93%) na concentração de 0,075% não diferiu dos resultados obtidos no teste de germinação (90%). Em relação às outras combinações de períodos e concentrações houve diferença significativa entre estas e a testemunha, pelo não desenvolvimento de coloração adequada, e subestimando a viabilidade das sementes desse lote.

Em outras espécies de Fabaceae podem ser encontrados trabalhos envolvendo a padronização do teste de tetrazólio com resultados diferenciados de acordo com a espécie estudada. Lamarca et al. (2009), por exemplo, evidenciaram que o melhor procedimento para estimar a viabilidade das sementes de *Caesalpinia echinata* Lam., foi o período de duas a quatro horas na concentração de 0,075%. Mendes et al. (2009), com sementes de *Parkia velutina* Benoist, e Camargos et al. (2008) com *Sesbania virgata*, encontraram como melhor combinação para avaliar a viabilidade das sementes dessas espécies a concentração de 0,5% durante um período de duas horas.

**TABELA 1. Resumo da análise de variância e médias (arcoseno $\sqrt{x/100}$ ) para a viabilidade de quatro lotes de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth., submetidos ao teste de germinação (testemunha) e a diferentes concentrações (0,1%, 0,075% e 0,05%) e períodos de coloração (2, 3 e 4 horas) no teste de tetrazólio a 35 °C.**

Fonte de variação	Quadrado Médio			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4
Tratamentos	2280,81**	2094,59**	854,71**	1454,61**
Testemunha vs Fatorial	4375,78**	4310,51**	903,44**	1973,36**
Concentração da solução de tetrazólio (C)	174,94**	1046,79**	358,57**	1134,92**
Período de coloração (P)	7860,03**	5475,49**	2806,26**	4342,09**
C x P	20,41 <sup>ns</sup>	374,07**	114,82**	41,00 <sup>ns</sup>
Resíduo	20,46	33,19	18,75	38,07
Média	44,6	39,5	41,9	55,4
Coefficiente de variação (%)	10,13	14,57	10,31	11,14
	Concentração (%)			Média
Período (horas)	0,1	0,075	0,05	
	Lote 1			
2	25,47 y (19) <sup>1</sup>	27,11 y (21)	17,95 y (10)	23,51 c (17)
3	31,26 y (27)	29,29 y (24)	27,76 y (22)	29,44 b (24)
4	74,09 z (92)	72,87 z (91)	64,54 y (81)	70,50 a (88)
Média	43,61 A (46)	43,09 A (45)	36,75 B (38)	
Germinação = 76,01 z (94)				
	Lote 2			
2	24,11 cAy (17) <sup>1</sup>	23,49 bABy (16)	13,98 cBy (6)	20,53 (13)
3	34,27 bAy (32)	23,36 bBy (16)	24,24 bABy (17)	27,29 (22)
4	69,95 aAz (87)	73,35 aAz (89)	35,03 aBy (38)	60,44 (71)
Média	42,78 (45)	40,07 (40)	25,42 (20)	
Germinação = 70,69 z (89)				
	Lote 3			
2	31,89 cAy (28) <sup>1</sup>	26,91 bAy (21)	19,31 bBy (11)	26,03 (20)
3	42,69 bAy (46)	31,87 bBy (28)	41,52 aAy (44)	38,69 (39)
4	65,33 aAy (82)	55,63 aBz (68)	48,47 aBz (56)	56,48 (69)
Média	46,63 (52)	38,14 (39)	36,43 (37)	
Germinação = 56,24 z (69)				
	Lote 4			
2	35,56 y (34) <sup>1</sup>	39,76 y (41)	19,18 y (11)	31,50 c (29)
3	66,72 z (84)	62,14 y (78)	52,01 y (62)	60,29 b (75)
4	72,87 z (91)	75,06 z (93)	54,36 y (66)	67,43 a (83)
Média	58,38 A (70)	58,98 A (71)	41,84 B (46)	
Germinação = 76,49 z (90)				

\*\* significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. <sup>ns</sup> – não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Médias seguidas por uma mesma letra maiúscula (A, B) na linha e minúscula (a, b, c) na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Médias seguidas por uma mesma letra (z, y), entre germinação (testemunha – teste de germinação) e viabilidade obtida no teste de tetrazólio, não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.

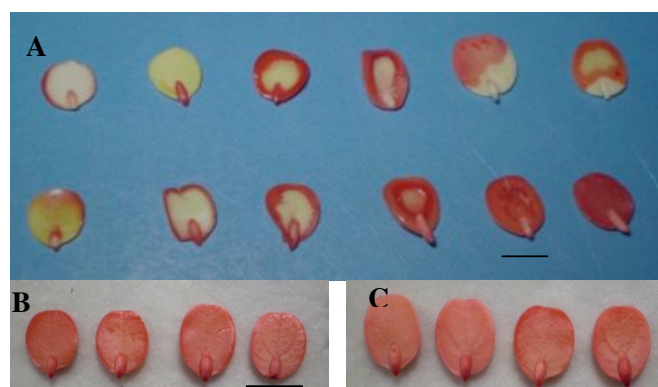
<sup>1</sup> Valores entre parênteses referem-se às médias originais.

Exemplos do padrão de coloração das sementes podem ser visualizados nas Figuras 1A a 1F. Com exceção do lote 3, em que a concentração de 0,05% por 3 e 4 horas de coloração foram eficientes para avaliar a qualidade das sementes de angico-de-bezerra, nos demais lotes essa concentração, independentemente do período, não promoveu coloração adequada que possibilitasse distinguir tecidos vivos de tecidos mortos ou deteriorados. Por ser uma concentração mais baixa, mesmo no período de 4 horas, foi ineficiente em detectar sinais de deterioração ou tecido morto na maioria dos lotes (Figura 1A). Por outro lado, as concentrações de 0,075% e 0,1%, no período de 4 horas de coloração, podem ser usadas para avaliar a viabilidade de sementes de angico-de-bezerra, pois promoveram coloração nítida dos embriões, facilitando a análise e interpretação dos resultados (Figuras 1B, 1C, 1D e 1E). Além disso, permitiram identificar lesões em áreas vitais (Figura 1A) do embrião, como no eixo hipocótilo-radícula e em toda área cotiledonar juntamente com o eixo embrionário, demonstrando a inviabilidade da semente. Deve-se ressaltar, contudo, que o período de 4 horas de coloração associado à concentração de 0,1% da solução de tetrazólio superestimou a viabilidade das sementes do lote 3, quando comparado ao resultado obtido no teste padrão de germinação (Tabela 1), porém para esse lote a concentração de 0,05% com quatro horas de coloração (Figura 1F) foi eficiente na determinação da viabilidade das sementes.

A escolha do método adequado para o teste de tetrazólio deve se basear na facilidade de identificação dos tecidos viáveis e inviáveis e na capacidade de diferenciar lotes com qualidades fisiológicas distintas. Neste sentido, Santos et al. (2006) não encontraram diferenças na estimativa da viabilidade de três lotes de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith e Downs, pelo teste de tetrazólio e observaram, também, que os três lotes não diferiram quanto à germinação.

A viabilidade de sementes de *Senna multijuga* (Rich.) Irwin et Barn e *Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn., pode ser avaliada pelo teste de tetrazólio a 0,075% a 30 °C, por 5 e 7 horas, respectivamente (Ferreira et al., 2004). A concentração de 0,1% durante 2,5 horas a 25 °C permitiu avaliar a qualidade de lotes de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert (Oliveira et al., 2005a). Em *Gleditschia amorphoides* Taub., a viabilidade das sementes pode ser avaliada pelo teste de tetrazólio, após embebição em água por 48 horas e coloração em solução de tetrazólio a 0,075%

por 3 horas, a 35 °C (Fogaça et al., 2006). Para sementes de *Clitoria ternatea* L. recomenda-se a escarificação manual com lixa e posterior embebição em água por 14 horas, a 25 °C e imersão das sementes em solução de tetrazólio a 0,3% por 2,5 horas a 25 °C (Deminicis et al., 2009). A hidratação de sementes de *Jatropha curcas* L. entre papel até atingirem 30% de água e a coloração do embrião em solução 0,5% de tetrazólio, durante 120 min, no escuro a 40 °C é eficiente para avaliar a viabilidade das mesmas (Pinto et al., 2009). O teste de tetrazólio foi eficiente na avaliação da viabilidade das sementes de *Poecilanthe parviflora* Benth. quando se utilizou a concentração de 0,1% por um período de duas horas (Valadares et al., 2009). Nessa mesma concentração, mas por um período de três horas, esse procedimento foi ineficiente em sementes de farinha-seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Burr.), não apresentando coloração uniforme em 22% das sementes, possivelmente em virtude da combinação do curto período de exposição e menor concentração da solução (Zucareli et al., 2001). Constata-se, portanto, que para cada espécie, seja florestal, ornamental, medicinal ou agrícola, há variações quanto ao procedimento para padronização do teste de tetrazólio.



**FIGURA 1.** Embriões viáveis e inviáveis de *Piptadenia moniliformis* Benth. avaliados no teste de tetrazólio em diferentes concentrações e períodos de coloração, a 35 °C. A – embriões inviáveis; B – embriões viáveis (0,1% / 3 h); C – embriões viáveis (0,1% / 4 h); D – embriões viáveis (0,075% / 3 h); E – embriões viáveis (0,075% / 4 h) e F – embriões viáveis (0,05% / 4 h). (Barra: 5 mm)

Um aspecto a ser salientado refere-se à comparação entre o teste de germinação e o de tetrazólio. De acordo com Piña-Rodrigues e Santos (1988), há uma tendência de o teste de tetrazólio superestimar a viabilidade das sementes, comparativamente aos resultados do teste de germinação, em virtude de não se verificar no teste de tetrazólio a presença de fungos e nem a ocorrência de sementes dormentes. Segundo catie (2000) citado por Oliveira et al. (2005b), a discrepância pode ocorrer porque no teste de tetrazólio, somente o embrião é avaliado, não considerando a influência das estruturas externas das sementes, o que nos resultados do teste de germinação é uma potencial fonte de infestações por patógenos. No caso das sementes de angico-de-bezerra, à exceção do lote 3 na concentração de 0,1% no período de 4 horas, não se verificou discrepância entre os dois resultados, no sentido de superestimativa pelo teste de tetrazólio. Para Ferreira et al. (2004), os resultados de viabilidade obtidos no teste de germinação e tetrazólio devem ser semelhantes, permitindo diferenças de até 5% entre ambos. Ocorrendo diferença superior a este valor, as razões podem ser por amostragem, presença de sementes dormentes na amostra, presença de elevado número de sementes com danos mecânicos e presença de fungos (França-Neto, 1999).

Segundo Santos et al. (2006), a importância do teste de tetrazólio, como instrumento de avaliação da viabilidade das sementes, deve-se à rapidez na obtenção dos seus resultados que podem ser úteis nas áreas de comercialização, beneficiamento, armazenamento e produção de mudas, sem que isto signifique o comprometimento do teste de germinação que funciona como um teste de balizamento ou referência.

## CONCLUSÃO

O teste de tetrazólio conduzido na concentração de 0,075% por quatro horas sob a temperatura de 35 °C é eficiente para avaliar a viabilidade das sementes bem como para diferenciar lotes de *Piptadenia moniliformis* Benth com qualidades fisiológicas distintas.

## REFERÊNCIAS

AÑEZ, L.M.M.; COELHO, M.F.B.; ALBUQUERQUE, M.C.F.; MENDONÇA, E.A.F.; DOMBROSKI, J. L. D. Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.3, p.82-

88, 2007. [http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf\\_v9\\_n3\\_2007/artigo12\\_v9\\_n3.pdf](http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf_v9_n3_2007/artigo12_v9_n3.pdf)

AZERÊDO, G.A.; PAULA, R.C.; VALERI, S.V.; MORO, F.V. Superação de dormência de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.2, p.49-58, 2010. <http://www.abrates.org.br/revista/artigos/2010/v32n2/artigos06.pdf>

AZERÊDO, G.A. Qualidade fisiológica de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. 2009. 121f. Tese (**Doutorado em Agronomia - Produção Vegetal**) Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009. <http://fcav.unesp.br/download/pgtrabs/pv/d/3380.pdf>

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237p. <http://www.abrates.org.br/revista/artigos/2010/v32n2/artigo06.pdf>

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Produção Vegetal. Coordenação de Laboratório Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 1992. 365p.

CAMARGOS, V.N.; CARVALHO, M.L.M.; ARAÚJO, D.V.; MAGALHÃES, F.H.L. Superação de dormência e avaliação da qualidade de sementes de *Sesbania virgata*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.6, p.1858-1865, 2008. [http://www.editora.ufla.br/site/\\_adm/upload/revista/32-6-2008\\_26.pdf](http://www.editora.ufla.br/site/_adm/upload/revista/32-6-2008_26.pdf)

COSTA, N.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. **Metodologia alternativa para o teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 7p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 39).

DEMNICIS, 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. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v31n2/v31n2a06.pdf>

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. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v30n3/19.pdf>

FERREIRA, R.A.; DAVIDE, A.C.; MOTTA, M.S. Vigor e viabilidade de sementes de *Senna multijuga* (Rich.) Irwin et Barn. e *Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn., num banco de sementes em solo de viveiro. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.24-31, 2004. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v26n1/a04v26n1.pdf>

- FOGAÇA, C.A.; MALAVASI, M.M.; ZUCARELI, C.; MALAVASI, U.C. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpiniaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.101-107, 2006. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v28n3/15.pdf>
- FRANCA-NETO, J.B. Testes de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRZYŻANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.1-7.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. Geografia do Brasil: Região Nordeste. Rio de Janeiro: SERGRAF. 1977.466p
- KRAMER, P.J.; KOZŁOWSKI, T.T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1972. 755p.
- LAMARCA, E.V.; LEDUC, S.N.M.; BARBEDO, C.J. Viabilidade e vigor de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil – Leguminosae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Botânica**, v.32, n.4, p.793-803, 2009. <http://www.scielo.br/pdf/rbb/v32n4/a17v32n4.pdf>
- MAIA, G.N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D&Z Computação Gráfica e Editora, 2004. 413p.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.
- MENDES, A.M. da S.; BASTOS, A.A.; MELO, M.G.G. Padronização do teste de tetrazólio em sementes de *Parkia velutina* Benoist (Leguminosae-Mimosoideae). **Acta Amazonica**, v.39, n.4, p.823-828, 2009. <http://www.scielo.br/pdf/aa/v39n4/v39n4a10.pdf>
- MENDONÇA, E.A.F.; RAMOS, N.P.; PAULA, R.C. Viabilidade de sementes de *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudl (louro-pardo) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.2, p.64-71, 2001. <http://www.abrates.org.br/revista/artigos/2001/v23n2/artigo09.pdf>
- MOORE, R.P. Interpretation of color differences in tetrazolium testing. **Seed Technologist News**, v.44, n.3, p.22-44, 1972.
- NASCIMENTO, M.P.S.C.B.; OLIVEIRA, M.E. A Quebra de dormência de sementes de quatro leguminosas arbóreas. **Acta Botanica Brasilica**, v.13, n.2, p.129-137, 1999.
- OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; DAVIDE, A.C. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert – Leguminosae Caesalpinoideae. **Cerne**, v.11, n.2, p.159-166, 2005a. [http://www.dcf.ufpa.br/cerne/artigos/11-02-20097975v11\\_n2\\_artigo%2006.pdf](http://www.dcf.ufpa.br/cerne/artigos/11-02-20097975v11_n2_artigo%2006.pdf)
- OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; NERY, M.C. Teste de tetrazólio e sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius ex A.P.de Candolle) Standley – Bignoniaceae. **Revista Ciência Agronômica**, v.36, n.2, p.169-174, 2005b. <http://www.ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/264/259>
- PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; SANTOS, N.R.F. Teste de tetrazólio. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p.91-100.
- PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; VALENTINI, S.R.T. Aplicação do teste de tetrazólio. In: SILVA, A.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (Ed.). **Manual Técnico de sementes florestais**. 1995, p.75-84. (IF- Série Registros, n.14).
- PINTO, T.L.F.; BRANCALION, P.H.S.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CICERO, S.M. Avaliação da viabilidade de sementes de coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora* BENTH. – Fabaceae-Faboideae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.1, p.208-214, 2008. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v30n1/a26v30n1.pdf>
- PINTO, T.L.F.; MARCOS FILHO, J.; FORTI, V.A.; CARVALHO, C.; GOMES JUNIOR, F.G. Avaliação da viabilidade de sementes de pinhão manso pelos testes de tetrazólio e de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.2, p.195-201, 2009. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v31n2/v31n2a23.pdf>
- ROVERSI, T.; THEISEN, G. Teste de tetrazólio. **Informativo Fundacep**, v.12, n.1, p.1-2, 2005.
- SANTOS, S.R.G.; PAULA, R.C.; FOGAÇA, C.A.; MÔRO, F.V.; COSTA, R.S. Viabilidade de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith e Downs (branquilha) – Euphorbiaceae – pelo teste de tetrazólio. **Científica**, v.34, n.1, p.39-45, 2006. <http://www.cientifica.org.br/index.php/cientifica/article/viewFile/27/12>
- VALADARES, J.; PAULA, R.C.; MÔRO, F.V. Germinação, desenvolvimento de plântulas e teste de tetrazólio em *Poecilanthe parviflora* Bentham (Fabaceae - Faboideae). **Científica**, v.37, n.1, p.39-47, 2009. <http://www.cientifica.org.br/index.php/cientifica/article/viewFile/263/150>
- ZUCARELI, C.; MALAVASI, M.M.; FOGAÇA, C.A.; MALAVASI, U.C. Preparo e coloração de sementes de farinha-seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Burr.) para o teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.2, p.186-191, 2001. <http://www.abrates.org.br/revista/artigos/2001/v23n2/artigo26.pdf>