



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA  
MESTRADO EM FITOTECNIA

KLEANE TARGINO OLIVEIRA PEREIRA

**VIABILIDADE E VIGOR DE SEMENTES FLORESTAIS PELO TESTE DE  
TETRAZÓLIO**

MOSSORÓ

2019

KLEANE TARGINO OLIVEIRA PEREIRA

**VIABILIDADE E VIGOR DE SEMENTES FLORESTAIS PELO TESTE DE  
TETRAZÓLIO**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de sementes

Orientador: Salvador Barros Torres, Prof. Dr.

Coorientadora: Clarisse Pereira Benedito, Prof<sup>a</sup>. Dra.

MOSSORÓ

2019

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)  
Setor de Informação e Referência (SIR)

T436v Targino Oliveira Pereira, Kleans.  
Viabilidade e vigor de sementes florestais  
pelo teste de tetrazólio / Kleans Targino Oliveira  
Pereira. - 2019.  
100 f. : il.

Orientador: Salvador Barros Torres.  
Coorientadora: Clarisse Pereira Benedito.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal  
Rural do Semi-Árido, Programa de Pós-graduação em  
Fitotecnia, 2019.

1. A. colubrina. 2. P. stipulacea. 3. Análise  
de sementes. 4. Espécies florestais. 5. Qualidade  
fisiológica. I. Barros Torres, Salvador, orient.  
II. Pereira Benedito, Clarisse, co-orient. III.  
Título.

Bibliotecário-Documentalista  
Nome do profissional, Bib. Me. (CRB-15/10.000)

KLEANE TARGINO OLIVEIRA PEREIRA

**VIABILIDADE E VIGOR DE SEMENTES FLORESTAIS PELO TESTE DE  
TETRAZÓLIO**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Fitotecnia.

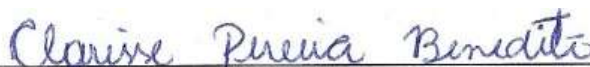
Linha de Pesquisa: Tecnologia de sementes

Defendida em: 22 / 02 / 2019.

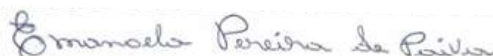
**BANCA EXAMINADORA**



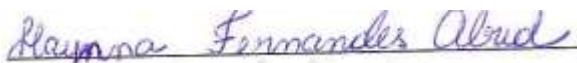
Salvador Barros Torres, Prof. Dr. (EMPARN/UFERSA)  
Presidente



Clarisse Pereira Benedito, Prof<sup>ª</sup>. Dra. (UFERSA)  
Membro Examinador



Emanoela Pereira de Paiva, Prof<sup>ª</sup>. Dra. (UFERSA)  
Membro Examinador



Haynna Fernandes Abud, Prof<sup>ª</sup>. Dra. (UFC)  
Membro Examinador

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser meu guia e por estar presente em tudo que me proponho a executar, por ser autor do meu destino, ser sempre meu socorro nas horas difíceis e minha gratidão em cada pequena conquista.

Agradeço ao meu marido, Maxwell Almeida Filgueira, por ser meu alicerce na vida e por não medir esforços para que eu alcance meus objetivos, fazendo deles nossos objetivos. Sem seu apoio, incondicional, eu não estaria concluindo mais essa etapa.

À minha mãe, Francisca das Chagas Targino de Oliveira, e meus irmãos, por todo amor, dedicação, apoio e por estarem presentes em minha vida. A vocês, o meu mais eterno agradecimento.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido, pela oportunidade, suporte e incentivo durante toda a graduação e a pós-graduação, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia (UFERSA).

Agradeço ao meu orientador, Professor Dr. Salvador Barros Torres, e à minha coorientadora, Profa. Dra. Clarisse Pereira Benedito, por todo o apoio, incentivo, orientação, paciência, carinho e amizade durante todos esses anos e por me sentir acolhida no Laboratório de Análise de Sementes (UFERSA), meu muito obrigada!

Agradeço a Emanoela Pereira de Paiva e a Haynna Fernandes Abud, por terem aceitado o convite para participar da banca e contribuir com este trabalho.

Agradeço aos meus amigos Emanoela P. Paiva, Sara Monaliza C. Carvalho, Maria Lília S. Neta, Tatianne R. Alves e Francisco de Assis de Oliveira, pela ajuda durante toda a condução do meu experimento, incentivo, torcida e principalmente pela amizade cultivada durante todo esse período.

Agradeço a todos que fazem parte do Laboratório de Análise de Sementes, Moadir de Souza Leite, Paulo César, Renata Ramayane, Jéssica Christie, Gutierrez Medeiros, Afonso Almeida e aos demais colegas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Obrigada!

Devemos ser gratos a Deus pelos pequenos detalhes. Nos detalhes descobrimos o valor de uma realidade. Olhar as miudezas da vida faz diferença.

Padre Fábio de Melo

## RESUMO

O teste de tetrazólio é um método rápido para avaliação da viabilidade e vigor. No entanto, alguns fatores, como preparo das sementes, concentração da solução do sal de tetrazólio e o tempo de exposição, podem interferir na eficiência do teste. Com isso, objetivou-se determinar a metodologia adequada do teste de tetrazólio para a avaliação da viabilidade e vigor de sementes das espécies *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul e *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke. A pesquisa foi realizada em três etapas, sendo a primeira a qualidade inicial das sementes, por meio do teste de germinação, emergência, índice de velocidade de germinação e emergência e o tempo médio de germinação e emergência. Em seguida, na segunda etapa, a curva de embebição foi realizada para definir o tempo de hidratação das sementes. Também determinou-se o modo de preparo das sementes para o teste de tetrazólio, testando-se períodos de hidratação, concentrações da solução de tetrazólio e períodos de coloração. Após a escolha do melhor método de preparo das sementes para o teste de tetrazólio, deu-se início à terceira etapa do experimento, cujo delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x9, sendo três sublotes e nove combinações, formadas por três concentrações da solução de tetrazólio e três períodos de coloração, totalizando vinte e sete tratamentos com quatro repetições de 25 sementes, avaliados separadamente a 35 e 40 °C, para cada espécie isoladamente. Após cada tratamento, as sementes foram lavadas, cortadas longitudinalmente e separadas nas seguintes classes: sementes viáveis e vigorosas (classe I), viáveis e não vigorosas (classe II), inviáveis (classe III) e mortas (classe IV). Dessa forma, no preparo das sementes pode-se concluir que deve ser realizado o desponte na região oposta à micrópila para as duas espécies, com posterior embebição em água por 10 horas (*A. colubrina*) e por 8 horas (*P. stipulacea*) a 25 °C, seguido da remoção do tegumento antes da imersão no sal de tetrazólio. A combinação que proporcionou o melhor resultado de viabilidade e vigor foi 0,075% por quatro horas, a 35 °C para *A. colubrina* e a 35 e 40 °C para *P. stipulacea*. Portanto, o teste de tetrazólio é eficiente para avaliar a viabilidade e o vigor de sementes das espécies em estudo.

**Palavras-chave:** *A. colubrina*. *P. stipulacea*. Análise de sementes. Espécies florestais. Qualidade fisiológica.

## ABSTRACT

The tetrazolium test is a rapid method to assess the viability and vigor. However, some factors, such as seed dressing, concentration of the tetrazolium salt solution and the time of exposure, may interfere with the efficiency of the test. The objective of this study was to determine the appropriate tetrazolium test methodology for evaluating the viability and vigor of seeds of the species *Anadenanthera colubrina* var. Cebil (Griseb.) Altshul and *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke. The research was carried out in three stages, the first being the initial quality of the seeds, through germination, emergency, germination speed index and emergency speed index, the germination and emergency germination time. Then, in second step, the imbibition curve was performed to define the seed hydration time. The seed preparation mode for the tetrazolium test was also determined by testing hydration periods, tetrazolium solution concentrations and staining periods. After the choice of the best method of preparation of the seeds for the tetrazolium test, the third stage of the experiment was started, with a completely randomized experimental design, in a 3x9 factorial scheme, three sublots and nine combinations, consisting of three concentrations of the tetrazolium solution and three staining periods, totaling twenty-seven treatments with four replicates of 25 seeds, evaluated separately at 35 and 40 ° C, for each species alone. After each treatment, the seeds were washed, cut longitudinally and separated into the following classes: viable and vigorous (class I), viable and non-vigorous (class II), non-viable (class III) and dead (class IV) seeds. Thus, in the preparation of the seeds, we may conclude that it is necessary to blunt in the region opposite to the micropyle for the two species, with subsequent soaking in water for 10 hours (*A. colubrina*) and for 8 hours (*P. stipulacea*) at 25 ° C, followed by removal of the integument before immersion in the tetrazolium salt. The combination that provided the best viability and vigor result was 0.075% for four hours, at 35 ° C for *A. colubrina* and at 35 e 40 °C for *P. stipulacea*. Therefore, the tetrazolium test is efficient to evaluate the viability and vigor of seeds of the species analyzed.

**Keywords:** *A. colubrina*. *P. stipulacea*. Analysis of seeds. Forest species. Physiological quality.



## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

- Figura 1 – Plântulas de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul: normal (A), anormal (B) – sublote 1 (não envelhecido); plântulas normais e anormais (C, D) – sublote 2 (envelhecido por 12 horas), sublote 3 (envelhecido por 24 horas), respectivamente.....46
- Figura 2 – Curva de embebição de sementes de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul a 25 °C, imersas em água destilada. PR = protrusão da radícula; 50% PR = protrusão da radícula em 50% das sementes.....47
- Figura 3 – Sementes de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul logo após o pré-umedecimento por 8 horas a 25 °C, antes da remoção do tegumento (A); semente com os cotilédones quebrados (B); após imersão com o tegumento (CT) em sal de tetrazólio nas concentrações de 0,05% (C), 0,075% (D) e 0,1% (E) por duas horas a 35 °C; imersas sem tegumento (ST) por 2 horas, nas concentrações de 0,05% (F), 0,075% (G), 0,1% (H).....49
- Figura 4 – Sementes de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul pré-umedecidas por 8 horas a 25 °C: semente dura (A) após imersão em sal de tetrazólio por 6 horas; sementes após imersão em sal de tetrazólio nas concentrações de 0,05% (B), 0,075% (C) e 0,1% (D) por 6 horas a 35 °C com tegumento (CT); sementes sem tegumento (ST) nas concentrações de 0,05% (E), 0,075% (F) e 0,1 % (G)..... 50
- Figura 5 – Sementes de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul despontadas na região oposta à micrópila e pré-umedecidas sem o tegumento por 10 horas a 25 °C e posteriormente imersas na solução de tetrazólio por 4 horas nas concentrações de 0,05% (A), 0,1% (B) e 0,5% (C) a 35 °C.....51
- Figura 6 – Padrão de coloração das sementes viáveis e vigorosas de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul. para as combinações (0,075%/4, 6 e 8 horas – A, B e C); (0,1%/4, 6 e 8 horas – D, E e F) e (0,5%/4, 6 e 8 horas – G, H e I), a 35 °C.....54
- Figura 7 – Padrão de coloração das sementes viáveis e vigorosas de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul. para as combinações (0,075%/4, 6 e 8 horas – A, B e C); (0,1%/4, 6 e 8 horas – D, E e F) e (0,5%/4, 6 e 8 horas – G

- e H), a 40 °C.....56
- Figura 8 – Padrão de coloração das sementes inviáveis (A) e (B) de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul. na concentração de 0,5% sal de tetrazólio e período de coloração de 8 horas testados, a 40 °C.....56
- Figura 9 – Padrão de coloração das sementes inviáveis e mortas de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul. nas concentrações de sal de tetrazólio (0,075, 0,1 e 0,5%) e períodos de coloração (4, 6 e 8 horas) testados.....60

### CAPÍTULO III

- Figura 1 – Curva de embebição de sementes de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke a 25 °C, imersas em água destilada. PR = protrusão da radícula; 50% PR = protrusão da radícula em 50% das sementes.....80
- Figura 2 – Sementes de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke embebidas por 8 horas em água a 25 °C, imersas na solução por 4 horas na concentração de 0,075% a 35 °C com tegumento (A) e sem tegumento (B) com desponte na região oposta a micrópila.....82
- Figura 3 – Sementes de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke embebidas por 8 horas a 25 °C, imersas na solução por 2 e 4 horas nas concentrações de 0,05% (A, D), 0,075% (B, E) e 0,1% (C, F) a 35 °C sem tegumento (ST) e corte na região oposta a micrópila.....83
- Figura 4 – Padrão de coloração das sementes viáveis e vigorosas de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke para as combinações (0,05%/2, 4 e 6 horas - A, B e C); (0,075%/2, 4 e 6 horas - D, E e F) e (0,1%/ 2, 4 e 6 horas - G, H e I), a 35 °C.....85
- Figura 5 – Padrão de coloração das sementes viáveis e vigorosas de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke para as combinações (0,05%/2, 4 e 6 horas - A, B e C); (0,075%/2, 4 e 6 horas - D, E e F) e (0,1%/ 2, 4 e 6 horas - G, H e I), a 40 °C.....86
- Figura 6 – Padrão de coloração das sementes inviáveis e mortas de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke Para as combinações (0,05%/2, 4 e 6 horas - A, B e C); (0,075%/2, 4 e 6 horas - D, E e F); (0,1%/ 2, 4 e 6 horas - G, H e I); (inviáveis - J, e K) e (sementes mortas - L, M, N e O).....93

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

Tabela 1	Pré-condicionamento de sementes <i>Anadenanthera colubrina</i> var. cebil (Griseb.) Altshul. para aplicação do teste de tetrazólio (IA = Imersão em água; CT = Com tegumento; ST = Sem tegumento; CL = Corte longitudinal).....41
Tabela 2	Descrição da coloração e características das sementes (Embrião, cotilédones e região vascular) de <i>Anadenanthera colubrina</i> var. cebil (Griseb.) Altshul. para cada categoria e níveis de vigor.....43
Tabela 3	– Resumo da análise de variância e teste de média para caracterização da qualidade inicial de sublotos de sementes de <i>Anadenanthera colubrina</i> var. cebil (Griseb.) Altshul. Grau de umidade (GU), germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e tempo médio de emergência (TME).....45
Tabela 4	– Resumo da análise de variância da viabilidade dos sublotos de sementes de <i>Anadenanthera colubrina</i> var. cebil (Griseb.) Altshul. submetidos a diferentes combinações de tetrazólio, nas temperaturas de 35 e 40 °C..... 52
Tabela 5	– Porcentagem de sementes viáveis de três sublotos de <i>Anadenanthera colubrina</i> var. cebil (Griseb.) Altshul., submetidas a diferentes combinações entre períodos de coloração e concentrações do sal de tetrazólio a 35 e 40 °C.....53
Tabela 6	– Resumo da análise de variância para diferentes classes de vigor de sublotos de sementes de <i>Anadenanthera colubrina</i> var. cebil (Griseb.) Altshul. submetidas a diferentes combinações (concentração e períodos no sal de tetrazólio), a 35 e 40 °C.....57
Tabela 7	– Classes de vigor de sementes de <i>Anadenanthera colubrina</i> var. cebil (Griseb.) Altshul., submetidas a diferentes concentrações de sal de tetrazólio e período de exposição à temperatura de 35 °C.....58
Tabela 8	– Classes de vigor de sementes de <i>Anadenanthera colubrina</i> var. cebil (Griseb.) Altshul., submetidas a diferentes concentrações de sal de tetrazólio e período de exposição à temperatura de 40 °C.....61

### CAPÍTULO III

Tabela 1	– Pré-condicionamento de sementes <i>Piptadenia stipulacea</i> (Benth.) Ducke para aplicação do teste de tetrazólio (IA = Imersão em água; CT = Com tegumento; ST = Sem Tegumento; CL = Corte longitudinal).....76
Tabela 2	– Descrição da coloração e características das sementes (Embrião, cotilédones e região vascular) de <i>Piptadenia stipulacea</i> (Benth.) Ducke para cada categoria e níveis de vigor.....78
Tabela 3	– Resumo da análise de variância para as variáveis grau de umidade (GU), germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e tempo médio de emergência (TME) de sublotos de sementes <i>Piptadenia stipulacea</i> Benth. Ducke.....79
Tabela 4	– Resumo da análise de variância da viabilidade dos sublotos de sementes de <i>Piptadenia stipulacea</i> Benth. Ducke para as temperaturas de 35 e 40 °C.....83
Tabela 5	– Porcentagem de sementes viáveis de três sublotos de <i>Piptadenia stipulacea</i> Benth. Ducke, submetidas a diferentes combinações entre períodos e concentrações de sal de tetrazólio a 35 e 40 °C.....84
Tabela 6	– Resumo da análise de variância para diferentes classes de vigor de sublotos de sementes de <i>Piptadenia stipulacea</i> Benth. Ducke submetidas a diferentes combinações (concentrações e períodos no sal de tetrazólio), a 35 e 40 °C...88
Tabela 7	– Classes de vigor de sementes de <i>Piptadenia stipulacea</i> Benth. Ducke submetidas a diferentes concentrações de sal de tetrazólio e período de exposição à temperatura de 35 °C.....89
Tabela 8	– Classes de vigor de sementes de <i>Piptadenia stipulacea</i> Benth. Ducke submetidas a diferentes concentrações de sal de tetrazólio e período de exposição à temperatura de 40 °C.....91

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOSA	Association of Official Seed Analysts
BOD	Biochemical Oxigem Demand
CL	Corte Longitudinal
CT	Com Tegumento
Dr	Doutor
GU	Grau de Umidade
IA	Imersão em Água
IVE	Índice de Velocidade de Emergência
IVG	Índice de Velocidade de Germinação
ISTA	International Seed Testing Association
NEMA	Núcleo de Agroecologia e Monitoramento Ambiental
PF	Peso Final
PI	Peso Inicial
PISF	Projeto de Integração do São Francisco
PR	Protrusão da Radícula
ST	Sem Tegumento
TME	Tempo Médio de Emergência
TMG	Tempo Médio de Germinação
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semi-Árido
UNIVASF	Universidade Federal do Vale do São Francisco
LAS	Laboratório de Análises de Sementes

## LISTA DE SÍMBOLOS

@	Arroba
°C	Graus Celsius
®	Marca registrada
%	Porcentagem
$\bar{T}$	Tempo médio
$\Sigma$	Somatório

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO</b>		18
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	19
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	21
<b>2.1</b>	<i>Anandenanthera colubrina</i> var. <i>cebil</i> (Griseb.) Altshul.....	21
<b>2.2</b>	<i>Piptadenia stipulacea</i> (Benth.) Ducke .....	22
<b>2.3</b>	<b>Germinação e vigor de sementes.....</b>	23
<b>2.4</b>	<b>Teste de tetrazólio.....</b>	25
2.4.1	Preparo das sementes.....	25
2.4.2	Importância do teste de tetrazólio .....	26
2.4.3	Padronização do teste de tetrazólio (concentração, temperatura e tempo).....	27
	<b>REFERÊNCIAS</b>	29
 <b>CAPÍTULO II – TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE <i>Anandenanthera colubrina</i> var. <i>cebil</i> (Griseb.) Altshul .....</b>		 34
	<b>RESUMO .....</b>	35
	<b>ABSTRACT .....</b>	36
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	37
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	39
<b>2.1</b>	<b>Origem das sementes .....</b>	39
<b>2.2</b>	<b>Local de realização do experimento .....</b>	39
<b>2.3</b>	<b>Caracterização da qualidade inicial dos sublotes de sementes .....</b>	39
2.3.1	Obtenção de sublotes.....	39
2.3.2	Teor de água e curva de embebição .....	39
2.3.3	Germinação e emergência .....	40
<b>2.4</b>	<b>Teste de tetrazólio.....</b>	41
2.4.1	Estudos preliminares para adequação ao teste de tetrazólio .....	41
2.4.2	Determinação da viabilidade e vigor das sementes com base no teste de tetrazólio.....	42
<b>2.5</b>	<b>Delineamento experimental.....</b>	43
<b>2.6</b>	<b>Análise estatística .....</b>	44

<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>3.1</b>	<b>Caracterização da qualidade inicial dos sublotos de sementes.....</b>	<b>45</b>
<b>3.2</b>	<b>Estudos preliminares para adequação do teste de tetrazólio em sementes de <i>A. colubrina</i>.....</b>	<b>47</b>
<b>3.3</b>	<b>Teste de tetrazólio .....</b>	<b>52</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>64</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>65</b>

**CAPÍTULO III – TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Piptadenia stipulacea* (Benth.)**

<b>Ducke .....</b>	<b>69</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>70</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>71</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>72</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>74</b>
<b>2.1 Origem das sementes .....</b>	<b>74</b>
<b>2.2 Local de realização do experimento .....</b>	<b>74</b>
<b>2.3 Caracterização da qualidade inicial dos sublotos de sementes .....</b>	<b>74</b>
2.3.1 Obtenção de sublotos .....	74
2.3.2 Teor de água e curva de embebição .....	74
2.3.3 Germinação e emergência .....	75
<b>2.4 Teste de tetrazólio.....</b>	<b>76</b>
2.4.1 Estudos preliminares para adequação ao teste de tetrazólio .....	76
2.4.2 Determinação da viabilidade e vigor das sementes com base no teste de tetrazólio.....	77
<b>2.5 Delineamento experimental.....</b>	<b>78</b>
<b>2.6 Análise estatística .....</b>	<b>78</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSÃO .....</b>	<b>79</b>
<b>3.1 Estudos preliminares para adequação do teste de tetrazólio em sementes de <i>A. colubrina</i>.....</b>	<b>79</b>
<b>3.2 Caracterização da qualidade inicial .....</b>	<b>80</b>
<b>3.3 Teste de tetrazólio .....</b>	<b>83</b>
<b>4 CONCLUSÃO .....</b>	<b>95</b>





## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A Caatinga apresenta grande diversidade de espécies com potencial de exploração. Dentre estas, angico (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altshul) e jurema-branca (*Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke) se destacam pela importância socioeconômica, com propriedades para diversos fins, como madeira, reflorestamento, medicinal, forrageiro, apícola e ecológica (MAIA, 2012). Com isso, representam alternativas de renda para as comunidades do nordeste brasileiro, inclusive na comercialização de sementes e/ou mudas, sendo primordial o uso de sementes com elevada qualidade genética, física, sanitária e fisiológica.

O estabelecimento e a uniformidade das mudas em campo dependem do uso de sementes de alta qualidade. Essas tendem a gerar plântulas vigorosas que se estabelecem em condições edafoclimáticas distintas, com maior velocidade de emergência e de desenvolvimento da planta (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI; HENNING, 2010). Dentre os testes para avaliação da qualidade das sementes, o de germinação é o rotineiramente utilizado pelos Laboratórios de Análises de Sementes (BRASIL, 2009). No entanto, dependendo da espécie, principalmente em florestais, requer períodos longos para o diagnóstico completo dos resultados, consequentemente interferindo nos interesses comerciais dos produtores de sementes e mudas (PIÑA-RODRIGUES; FIGLIOLIA; PEIXOTO, 2004).

Desse modo, é fundamental a busca por testes confiáveis e rápidos, que proporcionem agilidade na avaliação da qualidade de sementes. Com isso, permite-se a tomada de decisões de maneira antecipada, quanto ao uso ou descarte do lote, reduzindo os riscos de prejuízo ao produtor de sementes ou viveiristas (MARCOS-FILHO, 2015; AZEREDO; PAULA; VALERI, 2011). Neste sentido, os testes de vigor são cada vez mais importantes na medida em que proporcionam informações confiáveis quanto à qualidade fisiológica dos lotes de sementes (ABDO et al., 2005).

O teste de tetrazólio pode ser utilizado para avaliar a viabilidade e o vigor das sementes e identificar problemas relacionados a danos mecânicos, por secagem e por insetos (FRANÇA NETO; COSTA; KRZYZANOWSKI, 1998), que causam a deterioração das sementes. Essa deterioração é difícil de ser identificada em seu estágio inicial, por outro lado, no teste de tetrazólio, os tecidos das sementes são cuidadosamente avaliados e, dessa forma, é possível identificar o processo de perda da qualidade fisiológica das sementes.

Portanto, deve-se adotar procedimentos para a condução desse teste que favoreçam a agilidade no preparo das sementes para a avaliação (ARAUJO; REIS; NOVEMBRE, 2016),

reduzindo este período de avaliação de dias para horas. Este fato está relacionado ao desenvolvimento de metodologia adequada para cada espécie, de modo a definir as condições mais apropriadas de preparo, pré-condicionamento e coloração das sementes (BHERING; DIAS; BARROS, 2005), fatores cruciais na avaliação do vigor e da viabilidade das sementes.

Outra dificuldade encontrada para a condução do teste de tetrazólio é a falta de profissional qualificado para a avaliação e interpretação do padrão de coloração das sementes, e este fato é o principal impedimento à ampla difusão e adoção deste teste, podendo-se comprometer os resultados se o analista não tiver habilidade, paciência e experiência na identificação dos tecidos vivos e deteriorados (AZEREDO; PAULA; VALERI, 2011) subestimando ou superestimando os resultados de viabilidade.

A determinação da viabilidade de sementes de espécies florestais nativas pelo teste de tetrazólio ainda é incipiente. Porém, algumas pesquisas vêm sendo realizadas com o intuito de ajustar metodologias para o uso desse teste, como em: braúna preta - *Melanoxylon brauna* Schot. (CORTES; BORGES; PEREIRA, 2010); cumaru (*Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith.) (GUEDES et al., 2010); angico (*Anadenanthera peregrina* (L.)) (PINHO et al., 2011); catanduva (*Piptocarpha moniliformis* (Benth.) Luckow & R. W. Jobson) (AZEREDO; PAULA; VALERI, 2011); timbaúba (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong.) (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014); mulungu (*Erythrina velutina* Willd.) (CUNHA; GOMES, 2015); pereiro-vermelho (*Simira gardneriana* M. R. Barbosa & Peixoto) (OLIVEIRA et al., 2016); catingueira (*Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz) (SOUZA et al., 2017); e em jacarandá-do-litoral (*Platymiscium floribundum* Vog.), timbó (*Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl.) e monjoleiro (*Acacia polyphylla* DC.) (MASULLO et al. 2017). Como se nota, esse teste tem se mostrado uma alternativa promissora na determinação da viabilidade e do vigor da semente de várias espécies, pelo fato de proporcionar informações rápidas e confiáveis da qualidade fisiológica das sementes (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014).

Diante do exposto, objetivou-se determinar metodologia adequada do teste de tetrazólio para a avaliação da viabilidade e vigor de sementes das espécies *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul e *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altshul

Espécie pertencente à família Fabaceae e subfamília Mimosoideae. Conhecida popularmente por angico, angico-branco, angico-verdadeiro, angico-vermelho, angico-amarelo, angico-bravo, angico-castanho, angico-cedro, angico de casca e angico-de-cortume (LORENZI, 2002; LIMA, 2011). Entre os angicos brasileiros, este tem a maior abrangência geográfica, além de preferir matas mais secas (LORENZI, 2002). Ocorre em todo o Estado do Ceará, com ampla distribuição na Caatinga. Entretanto, verifica-se também desde o estado do Maranhão até o norte da Argentina, habitando também em florestas decíduas altas, como a Mata Atlântica, Cerrado, Pantanal mato-grossense e os campos Rupestres (MAIA, 2012).

A depender das condições climáticas da área em que se desenvolve o angico, este pode chegar até 30 m de altura, sendo que na Caatinga varia de 3 a 15 m. Seu caule apresenta casca em diferentes variações de cor, clara, acinzentada, castanho-vermelho, presença de acúleos abundantes ou poucos, escuro, profundamente gretado, áspero, lisa e com fissuras longitudinais pouco profundas. Folhas são compostas bipinadas, medindo 4-8 cm, flores brancas ou amarelo-esverdeadas, pequenas, de 3-5 cm. Os frutos podem atingir 32 a 33 cm de comprimento, variam de lisos a reticulados, achatados, uniloculares, falsamente septados, muitas vezes irregularmente contraídos, de cor marrom escuro ou castanho-avermelhado quando maduros. Contém de 10-12 sementes com cerca de um cm de diâmetro, aladas (LIMA, 2011; MAIA, 2012).

O angico possui múltiplas utilidades, tais como: potencial madeireiro na construção civil, naval, marcenaria e carpintaria; medicinal (tosse, bronquite, afecções do pulmão e vias respiratórias, reumatismo, adstringente e anti-inflamatória); ornamental (florada que cobre toda a árvore); sistemas agrofloretais, forragem, melífera, inseticida e aplicações industriais (tanino) (LORENZI, 2002; MAIA, 2012).

Assim como para a maioria das espécies nativas, a propagação do angico ocorre normalmente através de sementes (NEPOMUCENO et al., 2009). De modo geral, essa espécie possui reprodução vigorosa, certa rapidez na germinação, ausência de dormência e alta germinabilidade em ampla faixa de temperatura e plantas com resistência ao dessecamento pela presença do órgão de reserva (MAIA, 2012).

A via de propagação sexuada apresenta algumas desvantagens, como a falta de uniformidade na germinação, segregação de caracteres e longo tempo para a produção das mudas. Além disso, pode apresentar ainda grande número de plântulas anormais devido à exposição aos fatores ambientais, que só será identificada após o período de germinação (NEPOMUCENO et al., 2009). Portanto, isso demanda tempo e, conseqüentemente, custos para o produtor, desde o armazenamento de sementes, a produção da muda e replantio em campo.

O problema da identificação da formação de plântulas anormais verificadas somente ao final do teste de germinação pode ser contornado por meio do teste de tetrazólio, que avalia a viabilidade e vigor das sementes pela presença, localização e natureza das alterações nos tecidos das sementes por meio da coloração (FRANÇA NETO et al., 1999) e não pela formação de uma plântula, o que reduz consideravelmente a obtenção de resultados confiáveis quanto à qualidade fisiológica das sementes.

Dessa forma, se faz necessário o uso de metodologias mais rápidas para avaliação da qualidade de sementes em menor espaço de tempo, com resultados confiáveis.

## **2.2 *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke**

Conhecida vulgarmente por jurema-branca, carcará, cassaco, jurema, rasga-beiço ou saia-velha, esta espécie pertence à família Fabaceae (FABRICANTE; ANDRADE, 2007). Possui pequeno porte, atingindo entre 2 a 4 metros de altura, seu caule apresenta casca na cor castanho-claro, com presença de acúleos vigorosos, mesmo em ramos idosos. Sua inflorescência é do tipo espiga, com 4-8 centímetros de comprimento, de cor clara. O fruto é uma vagem de cor castanho-pálido, com 8-12 centímetros de comprimento, contendo entre 2-12 sementes pequenas, ovais, de cor marrom (MAIA, 2012).

A jurema-branca ocorre praticamente em toda Caatinga, desde o estado do Piauí até a Bahia (BRAGA, 1976; MAIA, 2012). É empregada em diversas utilidades na marcenaria, construção civil, lenha e carvão. Também é indicada para recuperação de solos (fixadora de nitrogênio), combate à erosão, sistemas agroflorestais, composição de pastos arbóreos e apícola. Além disso, produz forragem que é apreciada principalmente por caprinos (MAIA, 2012), e tem sido estudada especialmente pelo seu potencial efeito anti-inflamatório (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002).

Apesar de produzir quantidade considerável de sementes viáveis, a propagação da jurema-branca é limitada por conta da presença de sementes dormentes. Este fenômeno

constitui um dos principais entraves para a utilização de sementes dessa espécie em projetos florestais (OLIVEIRA; DAVIDE; CARVALHO, 2003). Benedito et al. (2019) estudando métodos de superação de dormência, temperaturas e substratos na germinação e vigor de sementes de *P. stipulacea*, recomendam o desponte na região oposta à micrópila e o teste de germinação pode ser conduzido à temperatura de 30 °C e 20-30 °C com o substrato rolo de papel. No entanto, para esta espécie não há informações sobre a utilização do teste de tetrazólio para análise da viabilidade e vigor de sementes dessa espécie.

### 2.3 Germinação e vigor de sementes

A germinação é um evento fisiológico resultante de fatores intrínsecos como qualidade das sementes e as condições de germinação, e dos fatores extrínsecos como o suprimento de água e de oxigênio e condições de temperatura, luz e substrato (SALOMÃO, 2003). É caracterizada como a retomada do crescimento do embrião e consequente rompimento do tegumento pela radícula originando uma nova planta (AMABIS; MARTHO, 2014). No entanto, a presença de dormência nas sementes é um dos itens que podem afetar significativamente os resultados do processo germinativo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

O sucesso no estabelecimento de cultivos florestais está vinculado à produção de mudas de qualidade, que depende do uso de sementes idôneas (SILVA et al., 2014) e de elevada qualidade genética, física, sanitária e fisiológica. Para avaliar a qualidade fisiológica das sementes, emprega-se comumente o teste de germinação, caracterizando-se seus atributos físicos e fisiológicos, principalmente nas espécies nativas, nas quais a variação na germinação é relativamente alta entre populações distintas (SILVA; CARVALHO, 2008).

Nesse sentido, o teste de germinação é considerado o parâmetro oficial mais utilizado para avaliar a qualidade dos lotes de sementes (BRASIL, 2009). Porém, para a maioria das espécies florestais o teste pode ser demorado, pois estas normalmente apresentam dormência, resultando em limitações e dificultando a tomada de decisões na indústria de sementes quanto ao uso ou descarte do lote (AÑEZ, 2007). Para as espécies *A. colubrina* e *P. stipulacea*, o teste de germinação tem duração de 10 dias (BENEDITO et al., 2019; BRASIL, 2013).

Apesar de o período para a análise da viabilidade não ser tão longo para as espécies do estudo através do teste de germinação, a avaliação da viabilidade e vigor de um lote de sementes em menor período permite reduzir o prazo de produção e entrega de mudas, reduzindo custos com mão de obra, insumos (semente, adubo, saco de mudas), plantio e

replântio, em virtude da análise ser realizada nos tecidos das sementes e identificar perda da qualidade da semente na fase inicial do empreendimento.

Na medida em que é realizado em condições ideais, o teste de germinação pode ainda estimar de forma excessiva a qualidade fisiológica de um lote de sementes. Aliás, não permite a identificação dos fatores que afetam a qualidade das sementes de maneira precisa, e seus resultados são frequentemente mascarados pela ocorrência de danos de embebição e pela presença de fungos (FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI; COSTA, 1998). Apesar de o teste de germinação poder identificar características de vigor, como comprimento da parte aérea ou primeira contagem, somente estas informações podem ser insuficientes para discriminar a qualidade dos lotes.

Em função disso, o desenvolvimento de novos testes de vigor e o aprimoramento dos existentes são fundamentais para a obtenção de resultados confiáveis a respeito do desempenho dos lotes de sementes no campo e/ou armazenamento, principalmente para os que possuem poder germinativo semelhante (BHERING et al., 2006).

Dessa forma, os testes de vigor são utilizados principalmente para distinguir o desempenho de lotes de sementes durante o armazenamento ou após a semeadura, procurando destacar lotes com maior eficiência para o estabelecimento do estande sob ampla variação das condições de ambiente (MARCOS-FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009).

Na falta de lotes e na tentativa de provocar diferenças no potencial fisiológico das sementes para ranquear lotes de maior e menor vigor, o lote de sementes original pode ser submetido a condições adversas, como o envelhecimento acelerado tradicional para obtenção de sublotes, como em sementes de pepino (MENEZES et al., 2011) e sorgo (OLIVEIRA et al., 2011). Como também os sublotes podem ser obtidos por tamanho e cor das sementes, como foi realizado em sementes de catanduva (AZEREDO; PAULA; VALERI, 2016).

Além disso, informações sobre o vigor de sementes são importantes para empresas produtoras de sementes, pois estas possuem alto valor comercial. Com isso, a redução do período de avaliação da qualidade fisiológica das sementes se faz necessária, pois as empresas exigem decisões rápidas em relação à gestão durante a colheita, recebimento, processamento, armazenamento e marketing (AZEREDO; PAULA; VALERI, 2016).

Dessa forma, o teste de tetrazólio, que é um teste bioquímico, vem se destacando pela rapidez e pela obtenção de resultados confiáveis, entretanto ainda não existe uma metodologia padronizada para todas as espécies (COSTA; SANTOS, 2010). Por esse motivo, pesquisas continuam sendo realizadas com o intuito de desenvolver procedimentos adequados para a condução do teste de tetrazólio, especialmente para as sementes florestais.



## 2.4 Teste de tetrazólio

### 2.4.1 Preparo das sementes

A eficácia do teste em avaliar o vigor e a viabilidade das sementes está relacionada a procedimentos apropriados para cada espécie, de modo a definir as condições mais adequadas para o preparo das sementes (GUEDES, 2010). Com isso, algumas espécies necessitam passar por etapas preparatórias previamente à imersão na solução de tetrazólio, para que esta seja absorvida pelas sementes (COSTA; SANTOS, 2010).

Sendo assim, se faz necessário o pré-umedecimento das sementes para que se iniciem as atividades fisiológicas da semente, facilitando a retirada do tegumento e a exposição do embrião na solução (CUNHA; GOMES, 2015). Após o pré-umedecimento, muitas espécies ainda necessitam de mais técnicas preparatórias, que envolvem a punção, o corte e/ou a remoção do tegumento (COSTA; SANTOS, 2010). De acordo com Bittencourt; Vieira (1999), a remoção do tegumento das sementes, antes da imersão em solução de tetrazólio, embora seja uma operação delicada e trabalhosa, possibilita reduzir o tempo necessário para que estas adquiram a coloração.

Dessa forma, com relação ao preparo das sementes antes do teste de tetrazólio, observa-se particularidades entre as espécies. Nas espécies copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.), guapuruvu (*Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake) (FOGAÇA et al., 2011) e timbaúba (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong) (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014), recomenda-se a escarificação das sementes seguida de embebição por 24, 48 horas a 35 °C e 24 horas a 25 °C, respectivamente, além da retirada do tegumento. Para a catingueira (*Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz (SOUSA et al., 2017), recomenda-se embebição por 24 horas, a 25 °C, seguida de corte na região oposta à micrópila. Em pereiro-vermelho (*Simira gardneriana* M. R. Barbosa & Peixoto), recomenda-se o pré-umedecimento entre papel por 144 horas a 30 °C. Para sementes de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit), o preparo das sementes consiste de umedecimento por 18 horas, a 25 °C. Recomenda-se o corte lateral das sementes, seguido da imersão em água, a 30 °C, por uma hora, e posterior remoção do tegumento, antes da imersão no sal (COSTA; SANTOS, 2010).

Além disso, o conhecimento das características morfológicas das sementes associada à coloração dos tecidos requer treinamento dos analistas (FOGAÇA et al., 2011) e para obtenção de resultados confiáveis o conhecimento da anatomia do embrião é imprescindível (MARCOS-FILHO, 2015). Atenção especial deve ser dada ao eixo radícula-hipocótilo e à

região vascular, estruturas essenciais à germinação, na medida em que qualquer dano nessas regiões poderá comprometer a viabilidade e o vigor da semente (FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI; COSTA, 1998). Além dessas regiões, danos à plúmula (região de inserção entre os cotilédones e eixo embrionário) podem causar a perda da viabilidade das sementes.

Diante do exposto, adequada condução do teste de tetrazólio é indispensável à realização de procedimentos para determinar o pré-condicionamento, além de corte das sementes antes de serem submetidas ao sal de tetrazólio, assim como a coloração, variando-se a concentração da solução do sal de tetrazólio, o período e a temperatura de condicionamento, sendo estes determinados para cada espécie (OLIVEIRA et al., 2005; GUEDES, 2010; MARCOS-FILHO, 2015).

#### 2.4.2 Importância do teste de tetrazólio

Trata-se de um teste bioquímico que determina, com certa rapidez, a viabilidade e o vigor das sementes, sobretudo daquelas que possuem germinação lenta ou que não germinam após o teste de germinação por estarem dormentes (FOGAÇA et al., 2006; BRASIL, 2009). Esta rapidez na obtenção de resultados é uma das vantagens do teste de tetrazólio quando comparado ao de germinação (SILVA et al., 2016), pois a demora na tomada de decisão constitui grande entrave durante o controle de qualidade de sementes pelas empresas produtoras (COSTA; SANTOS, 2010).

Os resultados do teste de tetrazólio são fundamentados na avaliação da viabilidade das sementes, com base na alteração da coloração dos tecidos em presença da solução de sal de tetrazólio (2, 3, 5 trifênil cloreto de tetrazólio). O cloreto de tetrazólio é reduzido pelas enzimas desidrogenases presentes nos tecidos vivos e sua forma reduzida, trifênilformazan (DIAS; ALVES, 2008), de coloração vermelha carmim, indica atividade respiratória nas mitocôndrias. Por sua vez, os tecidos mortos ou muito deteriorados apresentam-se descoloridos, com isso o padrão de coloração pode ser utilizado para identificar sementes viáveis e, dentro da categoria das viáveis, as de alto e baixo vigor (VIEIRA; PINHO, 1999).

Dessa forma, esse teste provoca a atenção dos pesquisadores nas condições físicas e fisiológicas do embrião de cada semente individualizada, identifica diferentes níveis de viabilidade, fornece o diagnóstico da causa da queda da viabilidade e os equipamentos necessários são simples. Por outro lado, requer conhecimento sobre a morfologia externa e interna da semente, é relativamente tedioso, pois as sementes são avaliadas uma a uma, requer

paciência e experiência, além de requerer do analista capacidade de decisão, dadas as características do teste (FRANÇA-NETO, 1999).

O teste de tetrazólio pode ser usado quando as sementes necessitam ser semeadas logo após a colheita, no caso de sementes recalcitrantes; quando ao final do teste de germinação apresenta um grande número de plântulas anormais; para identificar danos causados por tratamentos pré-germinativos ou para identificar danos durante o processo de produção das sementes: danos por secagem, por insetos e por umidade, bem como para detectar danos mecânicos de colheita e/ou beneficiamento (FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI; COSTA, 1998; BRASIL, 2009).

Para a realização do teste de tetrazólio, os materiais utilizados são relativamente simples, porém o valor de aquisição do sal é um pouco elevado, sendo desejável, portanto, o uso de metodologias mais econômicas (DIAS; ALVES, 2008). De forma geral, o teste tem se mostrado como uma alternativa interessante em virtude da 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).

A redução do tempo de avaliação da qualidade fisiológica de sementes foi verificada em espécies florestais como em *P. pyramidalis*. Para esta espécie, o tempo de 14 dias é utilizado para avaliar a viabilidade das sementes pelo teste de germinação e, pelo teste de tetrazólio, é possível avaliar a viabilidade em 25 horas e 20 minutos (SOUZA et al., 2017). Para sementes de *E. contortisiliquum*, cuja duração do teste de germinação é de 15 dias, o teste de tetrazólio dura apenas 27 horas (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014) e para sementes de *P. moniliformes*, a teste de germinação foi de 21 dias e o teste de tetrazólio durou somente 28 horas, comprovando a eficiência do teste de tetrazólio.

#### 2.4.3 Padronização do teste de tetrazólio (concentração, temperatura e tempo)

Além do pré-umedecimento, a utilização de concentração da solução de tetrazólio, tempo e temperatura de condicionamento e avaliação adequada da coloração das sementes são fundamentais para que se obtenham resultados confiáveis sobre a qualidade das sementes (OLIVEIRA et al., 2005).

A escolha do procedimento adequado deve se basear na facilidade de identificação dos tecidos viáveis e inviáveis e na capacidade de diferenciar lotes com qualidades fisiológicas distintas (KRZYZANOWSKI et al., 1999; AZEREDO; PAULA; VALERI, 2011). Para a temperatura, recomenda-se que o desenvolvimento da coloração seja entre 35 a 40 °C, por ser

mais rápido, entretanto o teste pode ser realizado normalmente em temperaturas de 20 a 40 °C (AÑEZ et al., 2007).

Estudos realizados evidenciam a eficiência do uso do teste de tetrazólio para a avaliação da viabilidade em sementes. Oliveira et al. (2016) recomendam o uso do sal de tetrazólio para avaliar a viabilidade das sementes de pereiro-vermelho (*Simira gardneriana* M.R. Barbosa & Peixoto) a 35 °C e concentração de 0,075% por seis horas, reduzindo o período de avaliação da viabilidade de 30 dias, pelo teste de germinação, para 150 horas. Algo semelhante ocorreu para avaliar as sementes de catanduva (*Piptyrocarpa moniliformis* Benth). No entanto, o tempo de coloração foi de 4 horas, e o período total do teste foi reduzido de 21 dias para 28 horas (AZEREDO; PAULA; VALERI, 2011). A determinação da viabilidade em sementes de timbaúba (*Enterelobium contortisiliquum* (Vell.) Morong) (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014) e catingueira (*Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz) (SOUZA et al., 2017) diminuiu de 15 e 14 dias para 27 e 25 horas, respectivamente.

Por outro lado, Cunha; Gomes (2014), ao realizarem o teste de tetrazólio para sementes de mulungu (*Erythrina velutina* Willd), concluíram que não houve semelhança estatística entre porcentagem de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio e a porcentagem de germinação, indicando o tempo de embebição de 6 horas, imersão por 3 horas, totalizando 9 horas para avaliar a viabilidade das sementes, ao passo que o teste padrão de germinação levaria 15 dias para obter os resultados. Ainda segundo os autores, a concentração da solução de tetrazólio indicada é a de 0,075% por questões de tempo e economia.

## REFERÊNCIAS

- ABDO, M. R. V. N. et al. Testes de vigor para avaliação de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 1, p. 195-198, jan./mar. 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010131222005000100025&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010131222005000100025&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 22 de nov. 2018.
- ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. C. H. Usos de recursos vegetais da caatinga: o caso do agreste do estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciência**, Caracas, n. 7, v. 27, p. 336-346, jul. 2002. Disponível em:<[https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Recursos\\_vegetais\\_caatinga\\_000fmkfyjm102wyiv80kxlb36f8ucm41.pdf](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Recursos_vegetais_caatinga_000fmkfyjm102wyiv80kxlb36f8ucm41.pdf)>. Acesso em 24 de set. 2018.
- AMABIS, J. M.; MARTHO, G. R. **Biologia dos organismos**. 2. ed. São Paulo: Moderna, 2004.
- AÑEZ, L. M. M. et al. Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 82-88, jul/set. 2007. Disponível em:<[http://www.sbpmed.org.br/download/issn\\_07\\_3/artigo12\\_v9\\_n3.pdf](http://www.sbpmed.org.br/download/issn_07_3/artigo12_v9_n3.pdf)>. Acesso em: 26 de jan. 2018.
- ARAUJO, R. B.; REIS, F. C.; NOVENBRE, A. D. L. C. Preparo de sementes de corda-de-violão para o teste de tetrazólio utilizando micro-ondas. **Multi-Science Journal**, Urutaí, v. 1, n. 4 p. 7-11, out./nov. 2016. Disponível em: <<https://www.ifgoiano.edu.br/periodicos/index.php/multiscience/article/view/108/95>>. Acesso em: 26 de jan.2018.
- AZEREDO, G. A.; PAULA, R. C.; VALERI, S. V. Electrical conductivity in *Piptadenia moniliformis* Benth. seeds lots classified by size and color. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 40, n. 5, p. 855-866, set./ out. 2016. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-67622016000500855&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-67622016000500855&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 04 de mar. 2019.
- BENEDITO, C. P. et al. Dormancy overcoming and germination test in *Piptadenia stipulaceae* (Benth.) Ducke seeds. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 50, n. 2, p. 338-344, abr./ jun. 2019. Disponível em: <<http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/5627/1811>>. Acesso em: 04 de mar. de 2019.
- BHERING, M. C. et al. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 64-71, jul./ set. 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222006000300010&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222006000300010&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 20 de set. 2018.
- BHERING, M. C.; DIAS, D. C. F. S.; BARROS, D. I. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 176-182, jan./mar. 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-31222005000100022](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222005000100022)>. Acesso em: 26 de fev. 2018.

BITTENCOURT, S. R. M.; VIEIRA, R. D. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de amendoim. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (org.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3 ed. Fortaleza: ESAM, 1976. 510p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2013. 98p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.

CORTE, V. B.; BORGES, E. E. L.; PEREIRA, B. L. C. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de *Melanoxylon brauna* Shot. **Cerne**, Lavras, v. 16, n. 3, p. 415-421, 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010477602010000300018&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010477602010000300018&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 24 de set. 2018.

COSTA, C. J.; SANTOS, C. P. Teste de tetrazólio em sementes de leucena. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina v. 32, n. 2, p. 66-72, abr./ jun. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v32n2/v32n2a08>>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

CUNHA, M. C. L.; GOMES, I. H. R. A. Viabilidade de sementes de *Erythrina velutina* Willd pelo teste de tetrazólio. **Nativa**, Sinop, v. 3, n. 3, p. 196-200, jul./set. 2015. Disponível em: <<http://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/nativa/article/view/2304>>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

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**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 152-158, jul./ set. 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222008000300020&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222008000300020&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 22 de set. 2018.

FABRICANTE, J. R.; ANDRADE, L. A. Análise estrutural de um remanescente de caatinga no Seridó paraibano. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 3, p. 341-349, jul./ set. 2007. Disponível em: <<https://revistas.ufrj.br/index.php/oa/article/viewFile/5676/4263>>. Acesso em: 22 de set. 2018.

FOGAÇA, C. A. et al. Teste de tetrazólio em sementes de *Copaifera langsdorffii* E *Schizolobium parahyba*. **Floresta**, Curitiba, v. 41, n. 4, p. 895-904, out./dez. 2011. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/25352>>. Acesso em: 07 de set. 2018.

FOGAÇA, C. A. et al. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. **EMBRAPA - CNPSo**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 101-107,

mar. 2006. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010131222006000300015&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010131222006000300015&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. A importância do uso de sementes de soja de alta qualidade. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 20, n. 1-2, p. 37-38, jan./mar. 2010. Disponível em:

<<https://www.agrolink.com.br/downloads/TRETRAZ%C3%93LIO.pdf>>. Acesso em: 15 de out. 2018.

FRANÇA 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.

FRANÇA NETO, J. B. et al. O Teste de Tetrazólio em Sementes de Soja. **EMBRAPA-CNPSO**, Londrina, 1998. 72p. (EMBRAPA-CNPSO. Documentos, 116). Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/447330>>. Acesso em: 20 de jun. 2017.

GUEDES, R. S. et al. Metodologia para teste de tetrazólio em sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 120-126, jan./mar. 2010. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-05722010000100017](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722010000100017)>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

KRYŻANOWSKI, F. C., VIEIRA, R. D., FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.

LIMA, B. G. **Caatinga: espécies lenhosas e herbáceas**. Mossoró: EdUfersa, 2011. 316 p.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. Fortaleza: Printcolor Gráfica e Editora, 2012. 413p.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed., Londrina: ABRATES, 2015. 660p.

MARCOS-FILHO, J.; KIKUTI, A. L. O.; LIMA, L. B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 102-112, jan./mar. 2009. Disponível em:

<<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v31n1/a12v31n1.pdf>>. Acesso em: 19 de set. de 2018.

MENEZES, et al. Detecção e influência de *Fusarium* spp. na qualidade fisiológica de sementes de pepino. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 21, p. 193-199, fev. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v33n4/16.pdf>>. Acesso em: 04 de mar. 2019.

NEPOMUCENO, C. et al. Respostas morfofisiológicas *in vitro* de plântulas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb) Altschul. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 481-490, mai./ jun. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010067622009000300010&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010067622009000300010&lng=pt&tlng=pt)>. Acesso em: 07 de set. 2018.

NOGUEIRA, N. W.; TORRES, S. B.; FREITAS, R. M. O. Teste de tetrazólio em sementes de timbaúba. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 6, p. 967-2975, nov./ dez. 2014. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/4457/445744145009/>>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

OLIVEIRA, B. O. et al. Avaliação citoquímica durante a germinação de sementes de sorgo envelhecidas artificialmente e osmocondicionadas, sob salinidade. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 223-231, jan./ mar. 2011. Disponível em: <<http://www.ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/1126/529>>. Acesso em: 04 de mar. 2019.

OLIVEIRA, F. N. et al. Viability of *Simira gardneriana* M.R. Barbosa & Peixoto seeds by the tetrazolium test. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 1, p. 07-13, jan./mar. 2016. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2317-15372016000100007](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372016000100007)>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

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 Caesalpinioideae. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 2, p. 159-166, abr./ jun. 2005. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=74411206>>. Acesso em: 10 de set. 2018.

OLIVEIRA, L. M.; DAVIDE, A. C.; CARVALHO, M. L. M. 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, set./ out. 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rarv/v27n5/a01v27n5>>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FILGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (org.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 283-297.

PINHO, D. S. et al. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de angico. **Pesquisa florestal brasileira**, Colombo, v. 31, n. 61, p. 269-272, jul./set. 2011. Disponível em: <<http://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/197>>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

SALOMÃO, A. N. **Germinação de sementes e produção de mudas de plantas do Cerrado**. In: SALOMÃO, N. A.; SOUSA-SILVA, J. C.; DAVIDE, A. C.; GONZÁLES, S.; TORRES, R. A. A.; WETZEL, M. M. V. S.; FIRETTI, F.; CALDAS, L. S. (org.) Brasília: Rede de Sementes do Cerrado, 2003. 96p.

SILVA, B. A. et al. Critérios para condução do teste de tetrazólio em sementes de araucária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 1, p. 61-68, jan. 2016. Disponível em: <<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/21716>>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

SILVA, B. M. S.; CARVALHO, N. M. Efeitos do estresse hídrico sobre o desempenho germinativo da semente de faveira (*Clitoria fairchildiana* R. A. Howard. - Fabaceae) de diferentes tamanhos. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 55-65,



jan./mar. 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222008000100008&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222008000100008&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 25 de set. 2018.

SILVA, R. F. et al. Produção de mudas de *Eucalyptus grandis* em substratos orgânicos alternativos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, n. 3, p. 609-619, jul./set. 2014. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/6478/9531>>. Acesso em: 13 de out. 2018.

SOUZA, D. M. M. et al. Viabilidade e vigor de sementes de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz pelo teste de tetrazólio. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 48, n. 2, p. 381-388, abr./jun. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S180666902017000200381&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S180666902017000200381&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 12 de set. 2018.

VIEIRA, M. G. G. C.; PINHO, E. V. R. V. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 8-1.

## **CAPÍTULO II**

### **TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altshul**

## RESUMO

O controle da qualidade fisiológica de sementes deve ser estabelecido com o uso de testes rápidos, precisos e confiáveis. Neste caso, o teste de tetrazólio se constitui em uma das alternativas promissoras para esse fim. Para isto, é imprescindível o desenvolvimento de metodologia adequada, determinando as melhores condições para a condução do teste. Dessa forma, objetivou-se determinar o modo de preparo das sementes, concentração e o tempo de coloração adequados para a avaliação da viabilidade e vigor de sublotos de sementes da *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altshul por meio do teste de tetrazólio. Para isto, as sementes de *A. colubrina* foram submetidas a dois períodos de envelhecimento acelerado (12 e 24 horas) para obtenção de 2 sublotos. A pesquisa foi realizada em três etapas, sendo na primeira analisada a qualidade inicial das sementes, pelo teste de germinação, emergência, índice de velocidade de germinação e emergência e o tempo médio de germinação e emergência. Na segunda etapa, realizou-se a curva de embebição para definir o tempo de hidratação das sementes. Em seguida, no modo de preparo das sementes, testou-se períodos de hidratação, concentrações da solução de tetrazólio e períodos de coloração para realização do teste de tetrazólio. Após a determinação do método mais eficiente no preparo das sementes para o teste de tetrazólio, deu-se início à terceira etapa do experimento, cujo delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x9, sendo três sublotos e nove combinações formados pelas concentrações (0,075%, 0,1%, e 0,5%) da solução de tetrazólio e três períodos de coloração (4, 6 e 8 horas), totalizando vinte e sete tratamentos com quatro repetições de 25 sementes, avaliados nas temperaturas de 35 e 40 °C, separadamente. Após cada tratamento, as sementes foram lavadas, cortadas longitudinalmente e divididas em quatro classes: sementes viáveis e vigorosas (classe I), viáveis e não vigorosas (classe II), inviáveis (classe III) e mortas (classe IV). A porcentagem de viabilidade foi obtida através da soma da classe I à classe II. Dessa forma, conclui-se que, com relação ao preparo das sementes antes do teste, deve ser realizado o desponte na região oposta à micrópila, com posterior embebição em água por 10 horas a 25 °C, seguido da remoção do tegumento antes da imersão no sal de tetrazólio. A combinação 0,075% por quatro horas, a 35 °C é eficiente para avaliação da viabilidade e vigor de sementes de *A. colubrina*.

**Palavras-chave:** Fabaceae. Teste bioquímico. Viabilidade. Vigor. Espécie florestal.

## ABSTRACT

The control of the physiological quality of seeds should be established with the use of rapid, accurate and reliable tests. In this case, the tetrazolium test is one of the promising alternatives for this purpose. For this, it is essential the development of adequate methodology, determining the best conditions for conducting the test. The objective of this study was to determine the seed preparation, concentration and the time staining to assess the viability and vigor of *Anadenanthera colubrina* var. (Griseb.) Altshul by means of the tetrazolium test. For this, the seeds of *A. colubrina* were submitted to two periods of accelerated aging (12 and 24 hours) to obtain sublots. The research was carried out in three stages, the first one being the initial quality, germination, emergency, germination and emergency speed index and the mean germination and emergency time. In the second step, the imbibition curve was used to define the seed hydration time. Then, in the seed preparation mode, periods of hydration, concentrations of the tetrazolium solution and staining periods were tested for the tetrazolium test. After the determination of the most efficient method of preparation the tetrazolium test, the third stage of the experiment was started. The experimental design was completely randomized, in a 3x9 factorial scheme, with three sublots and nine combinations formed by the concentrations (0.075%, 0.1% and 0.5%) of the tetrazolium solution and three staining periods (4, 6 and 8 hours), totaling twenty-seven treatments with four replicates of 25 seeds evaluated at temperatures of 35 and 40 ° C, separately. After each treatment, the seeds were washed, cut longitudinally and divided into four classes: viable and vigorous (class I), viable and non-vigorous (class II), non-viable (class III) and dead (class IV) seeds. The percentage of viability was obtained through the sum of class I and class II. Thus, it is concluded that, in relation to the preparation of the seeds before the test, the splitting should be performed in the region opposite to the micropyle, with subsequent soaking in water for 10 hours at 25 ° C, followed by removal of the tegument before immersion in tetrazolium salt. The combination of 0.075% for four hours at 35 °C is efficient to evaluate the viability and vigor of *A. colubrina* seeds.

**Keywords:** Fabaceae. Biochemical test. Viability. Vigor. Forest species.

## 1 INTRODUÇÃO

*Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altshul, conhecida popularmente por angico ou angico-branco, possui grande abrangência geográfica, no entanto ocorre com mais frequência em matas mais secas, como é o caso do bioma Caatinga (MAIA, 2012). Devido à exploração excessiva para diversos usos, a sobrevivência da espécie está ameaçada (NEPOMUCENO et al., 2009). Assim, estudos relacionados à avaliação da qualidade das sementes desta espécie são essenciais para programas de preservação, manejo e restauração de suas populações.

A produção de mudas de *A. colubrina* é feita principalmente por sementes, uma vez que é produzida grande quantidade de sementes viáveis por ano, além de não apresentarem dormência e sua germinação ocorrer em uma faixa ampla de temperatura, características desejáveis pelos viveiristas para o desenvolvimento de mudas de qualidade (MAIA, 2012).

Neste sentido, o sucesso na produção de mudas depende diretamente do uso de sementes com elevada qualidade física, fisiológica, sanitária e genética (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Para isto, testes em laboratório precisam ser realizados para avaliar a qualidade fisiológica das sementes de maneira precisa e rápida, auxiliando o produtor na tomada de decisões quanto ao uso ou descarte dos lotes de sementes (AÑEZ et al., 2007).

Rotineiramente, a qualidade das sementes é avaliada por meio do teste de germinação, realizado sob ótimas condições de temperatura, luminosidade e umidade, o que permite expressar o máximo de germinação (BRASIL, 2009). No entanto, dependendo da espécie analisada, esse teste requer um período relativamente longo, para obtenção dos resultados. Para sementes de *A. colubrina*, a duração do teste é de 10 dias (BRASIL, 2013) e o de emergência pode durar até 15 dias (OLIVEIRA; OLIVEIRA; ALOUFA, 2012). Dessa forma, é primordial a padronização de metodologias de testes rápidos para avaliar a qualidade fisiológica de lotes de sementes florestais.

Nesse contexto, o teste de tetrazólio pode ser uma alternativa promissora, devido à qualidade e rapidez na avaliação da viabilidade e vigor das sementes (BRASIL, 2009; SILVA et al., 2016). Isto representa economia significativa de tempo em comparação com a maioria dos testes para avaliação da qualidade das sementes, como o teste de germinação.

Na realização do teste de tetrazólio, são indicados procedimentos, chamados de pré-condicionamento ou preparo das sementes, que visam à penetração da solução nos tecidos de interesse a serem avaliados. Em sementes de espécies florestais, diversos tratamentos de pré-condicionamento vêm sendo utilizados, como corte, escarificação e embebição em água

(MENDES; BASTOS; MELO, 2009) Além disso, outras variáveis influenciam no resultado do teste, como a concentração da solução de tetrazólio, temperatura e período de incubação. O conhecimento da morfologia da semente da espécie avaliada também é fundamental para que se obtenham resultados confiáveis.

Estudos visando à padronização da metodologia para realização do teste de tetrazólio em sementes de espécies florestais têm sido praticados. Pinho et al. (2011) recomendam o teste de tetrazólio para determinar a viabilidade de sementes de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. Sousa et al. (2017) concluíram que o teste de tetrazólio é eficiente para avaliar a viabilidade e o vigor de sementes de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz. Na otimização do teste de tetrazólio em *Platymiscium floribundum* Vog., *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. e *Acacia polyphylla* DC., Masullo et al. (2017) verificaram que o teste de tetrazólio é eficiente para avaliar a qualidade fisiológica dessas espécies. Para *A. colubrina*, não foram geradas informações para a condução deste teste.

Portanto, objetivou-se determinar o modo de preparo das sementes, bem como a concentração e o tempo de coloração adequado para a avaliação da viabilidade e vigor de *A. colubrina* por meio do teste de tetrazólio.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Origem das sementes**

As sementes de *A. colubrina* foram disponibilizadas pelo Núcleo de Ecologia e Monitoramento Ambiental – NEMA/UNIVASF e pelo Projeto de Integração do São Francisco – PISF, em julho de 2016. Após o recebimento, essas foram acondicionadas em saco plástico e armazenadas em ambiente controlado (16-18 °C e 40% de umidade relativa) durante toda a fase experimental.

### **2.2 Local de realização do experimento**

O experimento foi conduzido em duas etapas no Laboratório de Análise de Sementes (LAS), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN, durante o período de agosto de 2017 a janeiro de 2018.

### **2.3 Caracterização da qualidade inicial das sementes**

#### **2.3.1 Obtenção de sublotes**

Para obtenção de sublotes, as sementes de *A. colubrina* foram submetidas ao envelhecimento acelerado tradicional, conduzido pelo método da câmara (MARCOS-FILHO, 1999). O envelhecimento das sementes foi conduzido em caixas plásticas do tipo gerbox (11 x 11 x 3 cm) e adição de 40 mL de água destilada no fundo da caixa. As sementes foram dispostas sobre tela no interior da caixa plástica e mantidas em câmara de germinação do tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D) a 41 °C pelos períodos de 12 e 24 horas, obtendo-se, assim, dois sublotes envelhecidos e um sem envelhecimento.

#### **2.3.2 Teor de água e curva de embebição**

Inicialmente, determinou-se o teor de água das sementes pelo método da estufa a  $105\pm 3^{\circ}\text{C}$  por 24 horas (BRASIL, 2009) para definir o período de hidratação das sementes antes da imersão no sal de tetrazólio. Para isto, utilizou-se duas repetições de  $4,5 \pm 0,5$  g, com

determinação do grau de umidade antes e após cada período de envelhecimento acelerado. Os resultados foram calculados com base na massa úmida expressos em porcentagem.

Para determinação da curva de embebição do lote de sementes, utilizou-se sementes intactas e despontadas na região oposta à micrópila, com duas repetições de 50 sementes cada, as quais foram pesadas em balança analítica digital (0,001 g) antes da embebição e após cada intervalo de tempo pré-determinado, até a emissão da radícula. A embebição foi realizada pelo método de imersão em água, com as sementes dispostas em Becker com 100 mL de água destilada e mantidas em câmaras de germinação do tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D), a 25 °C. Inicialmente, os intervalos de pesagem foram a cada uma hora durante oito horas de embebição; em seguida, pesou-se a cada duas horas por dezesseis horas de embebição; por último, as pesagens foram a cada quatro horas até vinte e oito horas de embebição, quando houve a protrusão da radícula em 50% das sementes de cada repetição.

Durante a embebição das sementes, o ganho de peso foi calculado de acordo com a fórmula proposta por Cromarty; Ellis; Roberts (1985): % Ganho de peso =  $[(Pf - Pi)/Pi] \times 100$ . Em que Pf: peso final (ganho de umidade a cada período de embebição) e Pi: peso inicial das sementes antes da embebição.

### 2.3.3 Germinação e emergência

Para o teste de germinação, realizou-se a semeadura em substrato rolo de papel toalha (Germitest<sup>®</sup>) previamente esterilizado em estufa a 105 °C durante duas horas e, posteriormente, umedecidos com água destilada na quantidade de 2,5 vezes o peso do substrato seco (BRASIL, 2009). Em seguida, as sementes foram incubadas em câmara do tipo B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*) a 25 °C com fotoperíodo de 8 h de luz (BRASIL, 2013).

A avaliação da germinação foi feita no décimo dia após a semeadura (BRASIL, 2013) sendo consideradas como germinadas as que apresentavam a formação de plântula normal (BRASIL, 2009).

A avaliação da emergência foi realizada em casa de vegetação pelo período de 15 dias, sendo a semeadura realizada em bandejas plásticas (28 x 20 x 7 cm) utilizando areia como substrato. Antes da semeadura, a areia foi previamente esterilizada em estufa a 200 °C por duas horas e umedecida a 60% da capacidade de campo, realizando irrigações diárias até o final da avaliação (OLIVEIRA, OLIVEIRA; ALOUFA, 2012).



Os índices de velocidade de germinação e emergência foram realizados em conjunto com os testes de germinação e emergência, cujos resultados foram calculados de acordo com a fórmula apresentada por Maguire (1962):  $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$ ; em que: IVG = índice de velocidade de germinação; G1, G2 e Gn = número de plântulas normais, computadas na primeira, segunda e última contagem; N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem.

Os tempos médios de germinação e emergência foram calculados de acordo com a fórmula proposta por Labouriau (1983), por meio de contagens diárias das sementes germinadas, sendo os resultados expressos em dias:  $\bar{T} = \sum n_i t_i / \sum n_i$ ; em que:  $\bar{T}$  = média ponderada;  $t_i$  = tempo de germinação;  $n_i$  = número de sementes germinadas no tempo  $t_i$ .

## 2.4 Teste de tetrazólio

### 2.4.1 Estudos preliminares para adequação ao teste de tetrazólio

Para facilitar a difusão do sal de tetrazólio nos tecidos das sementes, testes preliminares foram conduzidos de acordo com a Tabela 1. Logo, testou-se o período de pré-umedecimento para adequar o tempo de hidratação das sementes com base nas informações obtidas na curva de embebição; a remoção ou não do tegumento, uma vez que este pode causar o impedimento da penetração do sal nos tecidos; o corte longitudinal, para avaliação da coloração dos tecidos; assim como a concentração da solução e o período de imersão no sal, visando à forma mais adequada para colorir os tecidos vivos. Desta forma, primeiramente as sementes com desponte e intactas foram umedecidas em 50 mL de água destilada em câmara do tipo B.O.D a 25 °C e, em seguida, imersas no sal de tetrazólio por 8 e 10 horas. Para isto, utilizou-se quatro repetições de 10 sementes.

**Tabela 1.** Pré-condicionamento de sementes *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul para aplicação do teste de tetrazólio (IA = imersão em água; CT = com tegumento; ST = sem tegumento; CL = corte longitudinal).

Pré-umedecimento		Preparação para coloração	Cor		Método de preparação para avaliação
Tipo	Tempo (h)		Solução (%)	Tempo (h)	
IA	8	CT / ST	0,05; 0,075 e 0,1	2 e 6	CL
IA	10	ST	0,05; 0,1 e 0,5	4	CL

Para a realização do teste de tetrazólio, preparou-se a solução padrão (1,0%), pela dissolução de 10 g do sal de tetrazólio para 1 litro de água destilada, que foi acondicionada

em frasco de vidro de cor âmbar, protegida da presença de luz por papel alumínio e acondicionada em geladeira. A partir dessa solução padrão, obtiveram-se as demais concentrações utilizadas neste experimento.

Antes das sementes serem imersas na solução de tetrazólio, estas foram umedecidas por 8 e 10 horas a 25 °C, de acordo com resultado obtido na curva de embebição. Após esses períodos, o tegumento foi removido e as sementes foram imersas na solução do sal de tetrazólio para as respectivas concentrações e períodos descritos na Tabela 1, a 35 °C. Ao término do período de coloração, as sementes foram lavadas em água corrente, seccionadas longitudinalmente no centro do eixo embrionário e avaliadas apenas quanto à uniformidade e à intensidade de coloração apresentada pelos tecidos.

#### 2.4.2 Determinação da viabilidade e vigor das sementes com base no teste de tetrazólio

Com base nos procedimentos preliminares (Etapa I), para facilitar a absorção de água e remoção do tegumento, realizou-se o desponte das sementes, na região oposta à micrópila. Em seguida, as sementes foram imersas em água destilada por 10 horas a 25 °C; após este período, retirou-se o tegumento das sementes para facilitar a coloração mais uniforme dos tecidos. Logo depois, as sementes foram submetidas aos tratamentos compostos pela combinação de diferentes concentrações da solução de tetrazólio e períodos de imersão no sal de tetrazólio (0,075%/ 4h; 0,075%/ 6h; 0,075%/ 8h; 0,1%/ 4h; 0,1%/ 6h; 0,1%/ 8h; 0,5%/ 4h; 0,5%/ 6h; 0,5%/ 8h) em três sublotes, totalizando 27 tratamentos com quatro repetições de 25 sementes. Estas foram avaliadas separadamente a 35 e 40 °C em ausência de luz.

Após cada período de coloração, a solução de tetrazólio foi drenada e as sementes foram lavadas em água corrente, seccionadas longitudinalmente no centro do eixo embrionário e avaliadas individualmente quanto à uniformidade e à intensidade de coloração apresentadas pelos tecidos. Com isto, foi possível classificar as sementes em quatro níveis de vigor (Tabela 1) de acordo com a adaptação do trabalho realizado por Masullo et al. (2017) com sementes em espécies florestais.

**Tabela 2.** Descrição da coloração e características das sementes (Embrião, cotilédone e região vascular) de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altshul para cada categoria e níveis de vigor

Categories	Classes	Descrição
Viáveis e vigorosas	Classe I	Coloração em tonalidades róseas uniforme; tecidos túrgidos; presença de tecido morto ou em deterioração na região periférica dos cotilédones ou próximas ao eixo embrionário; danos superficiais não afetando a região interna do cotilédone.
Viáveis e não vigorosas	Classe II	Presença de tecido morto ou em deterioração na região oposta ao eixo embrionário, podendo apresentar-se na região interna e externa da região periférica do cotilédone; na região mediana do cotilédone, afetando interna e externamente os dois lados; na região do eixo embrionário externa e internamente, não afetando o cilindro central ou afetando em menor extensão (menor que metade de sua espessura); na extremidade da radícula, sem afetar o cilindro central; próximos à região da plúmula, sem afetá-la; fratura do cotilédone, tecido morto ou deteriorado numa extensão menor que a metade da área total dos cotilédones ou de um dos cotilédones, deixando apenas o eixo embrionário intacto; fratura na região próxima ao ponto de ligação dos cotilédones com o embrião, mas deixando a região vascular intacta; eixo embrionário encontra-se bem definido.
Inviáveis	Classe III	Presença de tecido morto ou em deterioração em ambos os cotilédones bloqueando a região vascular no eixo embrionário, atingindo o cilindro central no ponto de ligação de ambos os cotilédones, atingindo a região vascular; tecidos mortos ou em deterioração em extensão maior que a metade da superfície total dos cotilédones; fratura dos cotilédones com área maior que o a superfície da semente; plúmula em deterioração.
Mortas	Classe IV	Apresenta coloração esbranquiçada, esverdeada ou necrosada, às vezes com tonalidades róseo escuro mesclado.

As porcentagens de sementes viáveis e vigorosas, viáveis e não vigorosas, inviáveis e mortas foram computadas e os dados transformados em arco-seno  $\sqrt{x}/100$  para normalização de sua distribuição. Na determinação da porcentagem de viabilidade em cada tratamento, utilizou-se a soma da porcentagem de sementes na classe I (viáveis e vigorosas) e II (viáveis e não vigorosas).

## 2.5 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3x9, sendo três sublotos (sublote 1- sem envelhecimento; sublote 2 - envelhecidos por 12 horas e sublote 3 – envelhecido por 24 horas) e 9 combinações (concentrações da solução de tetrazólio e períodos de imersão no sal de tetrazólio), totalizando vinte e sete tratamentos, com quatro repetições de 25 sementes, para as temperaturas de 35 e 40 °C, isoladamente.

## 2.6 Análise estatística

Os resultados da viabilidade e vigor foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F ao nível de 5% de significância. Em caso de significância, as médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas por meio do *software* Sisvar (FERREIRA, 2011).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Caracterização da qualidade inicial dos sublotos de sementes

Por meio da análise da qualidade inicial, verifica-se efeito significativo em todas as variáveis avaliadas, exceto para o índice de velocidade de emergência. Logo, o envelhecimento acelerado afetou a qualidade das sementes (Tabela 3).

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância e teste de média para caracterização da qualidade inicial de sublotos de sementes de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul. Grau de umidade (GU), germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e tempo médio de emergência (TME).

Análise da variância							
Fontes de variação	Quadrados médios						
	GL	G (%)	IVG	TMG	E (%)	IVE	TME
Sublotos	2	625,3**	34,17**	3,72**	508,0**	0,16 <sup>n.s</sup>	1,79**
Erro	9	26,2	2,59	0,44	34,67	0,19	0,13
Média		72,33	12,88	1,82	66,0	3,95	4,76
CV (%)		7,08	12,50	12,15	8,92	11,07	7,70
Teste de média							
Sublotos	GU (%)	G (%)	IVG	TMG	E (%)	IVE	TME
1	8,9	85 a	9,5 b	2,92 a	79 a	4,15 a	5,5 a
2	21,1	72 b	14,5 a	1,13 b	59 b	3,98 a	4,2 b
3	35,7	60 c	14,6 a	1,43 b	60 b	3,75 a	4,58 b
CV (%)		7,08	12,5	12,15	8,92	11,07	7,7
DMS		10,12	3,18	0,44	11,63	0,87	0,72

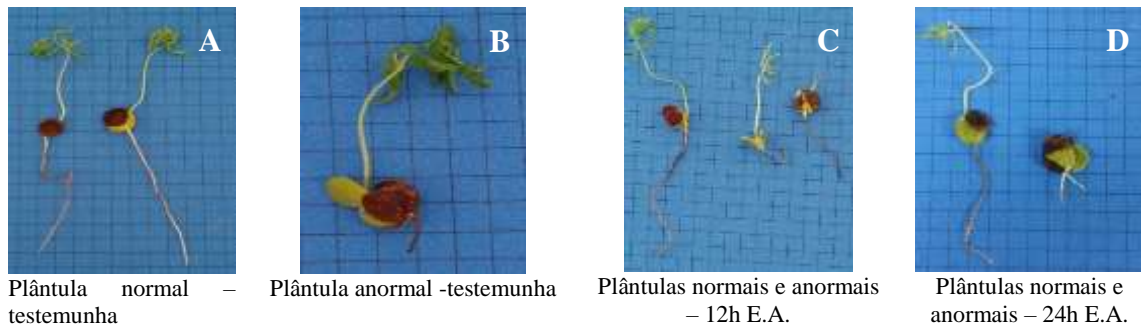
\*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

As sementes apresentaram teor de água de 8,9% para o sublote 1. Este é um fator importante a ser observado na qualidade inicial dos sublotos, já que o excesso de água pode acarretar aceleração da deterioração, com condições favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos, ao passo que a falta pode interromper processos metabólicos importantes, influenciando os resultados (MELLO; BARBEDO, 2007). Além disso, o teor de água deve estar abaixo de 13% para evitar deterioração das sementes durante o armazenamento (GUARESCHI et al., 2015).

Na medida em que os sublotos 2 e 3 foram envelhecidos por 12 e 24 horas, respectivamente, o teor de água das sementes foi aumentando devido às condições de estresse, alta temperatura e alta umidade relativa. Estes períodos contribuíram para a absorção de água pelas sementes, que pode interferir na interpretação dos dados do teste de envelhecimento acelerado (MARCOS-FILHO, 2015), uma vez que em resposta ao aumento do teor de água

nas sementes pode-se verificar o aumento do índice de velocidade de germinação e a redução do tempo médio de germinação (Tabela 3).

O subote 1 apresentou maior porcentagem de germinação em relação aos demais subotes. As sementes de *A. colubrina*, apesar de estarem armazenadas em condições controladas de temperatura e umidade relativa do ambiente, tiveram sua qualidade fisiológica reduzida quando submetidas ao envelhecimento acelerado por 12 e 24 horas para obtenção dos subotes 2 e 3. Logo, estes subotes apresentaram menores porcentagens de germinação e, de acordo com Silva et al. (2016), sementes de menor qualidade quando expostas a estas condições deterioram-se rapidamente, interferindo, assim, na redução da taxa de germinação, além de aumentar a formação de plântulas anormais (MARCOS-FILHO, 2015), como verificado neste trabalho (Figuras 1B, 1C e 1D).



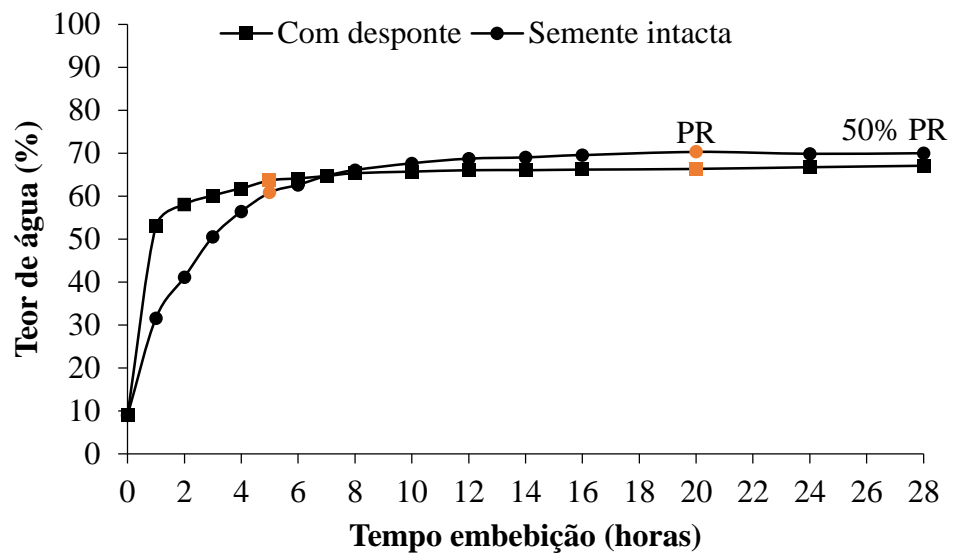
**Figura 1.** Plântulas de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul: normal (A), anormal (B) – subote 1 (não envelhecido); plântulas normais e anormais (C, D) – subote 2 (envelhecido por 12 horas), subote 3 (envelhecido por 24 horas), respectivamente.

Em estudo realizado com *P. moniliformis*, o teste de envelhecimento acelerado quando conduzido à temperatura de 41 °C por 24 horas proporcionou ganho de água em torno de 34-36% de água, semelhante ao obtido para *A. colubrina*, adequado para estratificar lotes de qualidade fisiológica distinta (AQUINO et al., 2018).

Resultado semelhante ao da germinação foi verificado para a emergência de plântulas de *A. colubrina*, em que o subote 1 obteve melhor desempenho do que os subotes 2 e 3, que não diferem estatisticamente; o mesmo comportamento ocorreu para o tempo médio de germinação. Para o índice de velocidade de germinação, constatou-se semelhança entre os subotes que não diferiram estatisticamente. Estes resultados refletem a qualidade inicial do lote, que, diante das condições desfavoráveis, resultou no aumento da taxa de deterioração das sementes quando estas foram submetidas a elevada temperatura e umidade, permitindo verificar se o teste de tetrazólio é tão eficiente na avaliação da qualidade fisiológica das sementes quando estas são submetidas a essas condições de estresse (Tabela 3).

### 3.2 Estudos preliminares para adequação do teste de tetrazólio em sementes de *A. colubrina*

O valor médio do teor de água inicial das sementes de *A. colubrina* foi de 8,93%. Através da curva de embebição, observou-se rápida absorção de água pelas sementes com e sem desponte durante as primeiras seis horas de hidratação atingindo 64% de umidade e, com isto, concluindo a primeira fase de embebição (Figura 2).



**Figura 2.** Curva de embebição de sementes de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul a 25 °C, imersas em água destilada. PR = protrusão da radícula; 50% PR = protrusão da radícula em 50% das sementes.

Segundo Marcos-Filho (2015), a fase I é caracterizada pela rápida passagem de água do substrato para a semente devido à diferença de potencial hídrico existente, independentemente de a semente apresentar dormência, alcançando grau de umidade superior a 45% (base úmida) para as espécies com reservas cotiledonares.

Entre o período de 7 e 19 horas de embebição, a absorção de água pelas sementes com e sem desponte se manteve constante, caracterizando a fase II, quando ocorrem a preparação e ativação do metabolismo das sementes para o crescimento do embrião. Nesta fase, a velocidade de absorção de água ocorre lentamente devido à proximidade do equilíbrio entre os potenciais hídricos e as sementes também tendem a se manter tolerantes à desidratação ou à dessecação (BEWLEY et al., 2013).

Após 28 horas de hidratação, verificou-se a emissão da radícula de 50% das sementes, que atingiram teor de água de 67,1%, completando o padrão trifásico proposto por Bewley et

al. (2013) (Figura 2). De acordo com Carvalho; Nakagawa (2012), a duração de cada fase depende de vários fatores inerentes à semente, como a permeabilidade do tegumento e o tamanho das sementes; além das condições externas durante o processo de embebição, como a temperatura, que influencia na velocidade de absorção, na velocidade e uniformidade de germinação e nas reações bioquímicas durante todo o processo e, conseqüentemente, na germinação.

Com isso, cada fase é alcançada em período específico para cada espécie e, para sementes despontadas de orelha-de-onça (*Macropodium martii* Benth.), a fase I é finalizada com 4 horas de embebição quando alcança cerca de 50% de umidade. A fase II, em torno de 50 a 55 % de água, tem duração de 7 horas, e o início da fase III se deu após 11 horas de umedecimento e foi finalizada após 15 horas de embebição (ARAÚJO et al., 2014).

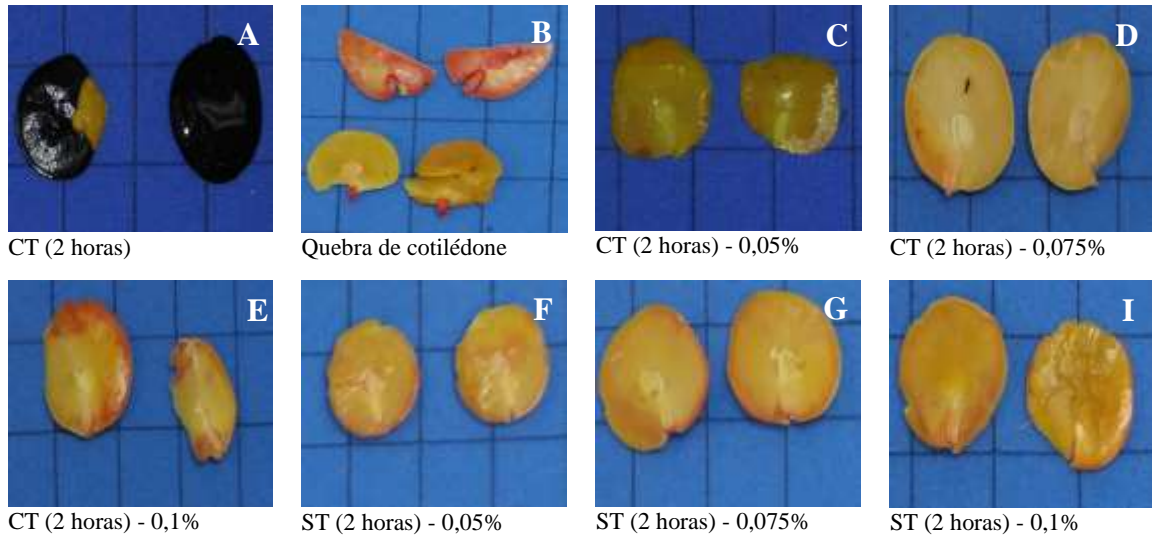
Conteúdos de água acima de 50% podem promover divisão celular, germinação e crescimento (BEWLEY et al., 2013). No entanto, esse comportamento também é distinto para cada espécie, como pode ser observado em sementes de corda-de-viola (*Ipomoea hederifolia* L.) cuja emissão da radícula ocorreu quando o conteúdo de água das sementes atingiu cerca de 21,8% para as sementes do subote 1 e 34,9% para as do subote 2, após 9 horas de hidratação. O pré-umedecimento da semente foi realizado por 3 horas, quando alcançou cerca de 13% de água, antes da imersão do sal de tetrazólio, suficiente para a coloração dos tecidos vivos (ARAÚJO; REIS; NOVEMBRE, 2016). Para sementes de *A. colubrina*, o conteúdo de água necessário para permitir a coloração dos tecidos vivos foi maior, em torno de 65%, conforme verificado pela curva de embebição para a coloração dos tecidos (Figura 2).

O ganho de água pelas sementes está relacionado às modificações internas nas sementes, que auxiliam a melhor penetração do sal de tetrazólio e provocam o amolecimento da semente para a realização do corte, motivo pelo qual a determinação da curva de absorção de água é importante na obtenção de informações em relação ao ganho de água (BHERING et al., 1996).

Diante do exposto, as sementes de *A. colubrina* foram pré-umedecidas em água por oito horas e imersas com ou sem o tegumento no sal de tetrazólio por duas horas, no entanto não apresentaram coloração dos tecidos, independentemente das concentrações usadas (Figura 3). Possivelmente, o tempo de oito horas de pré-embebição não foi suficiente para o intumescimento dos tecidos e, conseqüentemente, dificultou a remoção do tegumento, causando a quebra e/ou dano aos cotilédones e ao eixo embrionário (Figura 3B). Também verificou-se que o período de 2 horas de imersão no sal de tetrazólio foi insuficiente, não

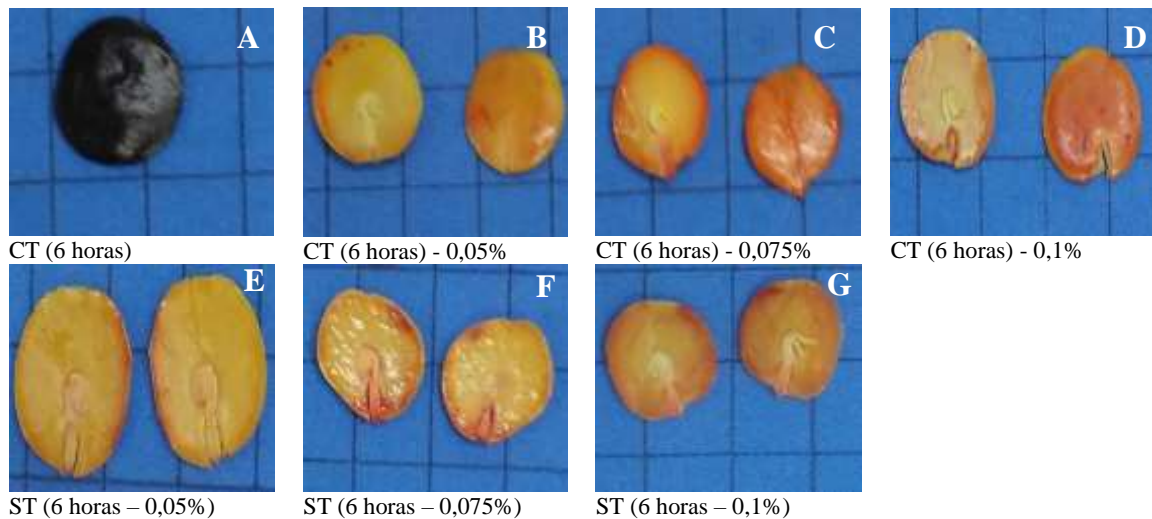


sendo possível a coloração dos tecidos mesmo quando houve a remoção do tegumento (Figuras 3F, 3G e 3H).



**Figura 3.** Sementes de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altshul logo após o pré-umedecimento por 8 horas a 25 °C, antes da remoção do tegumento (A); semente com os cotilédones quebrados (B); após imersão com o tegumento (CT) em sal de tetrazólio nas concentrações de 0,05% (C), 0,075% (D) e 0,1% (E) por duas horas a 35 °C; imersas sem tegumento (ST) por 2 horas, nas concentrações de 0,05% (F), 0,075% (G), 0,1% (H).

As sementes pré-embebidas por oito horas e imersas com o tegumento na solução de tetrazólio 0,05% por seis horas também não tiveram seus tecidos coloridos, ao passo que nas concentrações de 0,075% e 0,1%, apenas os cotilédones e o embrião coloriram externamente. Entretanto, a plúmula (parte interna dos cotilédones) e toda a região vascular da semente não coloriram (Figuras 4B, 4C e 4D). Resultados semelhantes foram obtidos para sementes imersas sem o tegumento (Figuras 4E, 4F e 4G), ou seja, mesmo com a remoção do tegumento, a embebição por 8 horas e os tratamentos testados não foram suficientes para diferenciar os tecidos vivos dos mortos. Isto aponta a necessidade de aumento do período de embebição e/ou concentração do sal de tetrazólio, uma vez que não foram suficientes para o umedecimento dos tecidos das sementes e, com isso, não houve a difusão do sal de tetrazólio.



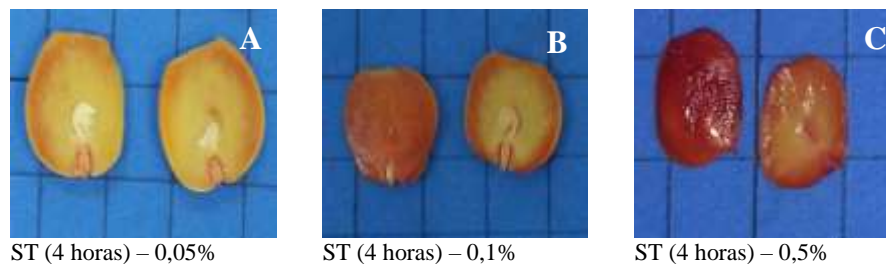
**Figura 4.** Sementes de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altshul pré-umedecidas por 8 horas a 25 °C: semente dura (A) após imersão em sal de tetrazólio por 6 horas; sementes após imersão em sal de tetrazólio nas concentrações de 0,05% (B), 0,075% (C) e 0,1% (D) por 6 horas a 35 °C com tegumento (CT); sementes sem tegumento (ST) nas concentrações de 0,05% (E), 0,075% (F) e 0,1% (G).

Dessa forma, a retirada do tegumento se fez necessária, pois algumas sementes não conseguiram absorver o sal de tetrazólio devido à impermeabilidade do tegumento, mesmo após 8 horas de embebição e 6 horas de imersão no sal de tetrazólio (Figura 4A). Sementes com o tegumento duro não conseguiram absorver água de maneira suficiente e, consequentemente, com baixa ativação do metabolismo. Sendo assim, é importante enfatizar estudos relacionados ao pré-umedecimento das sementes, pois as condições de pré-tratamento, concentração da solução de tetrazólio e tempo de coloração são extremamente específicas para cada espécie (FOGAÇA et al., 2011). Além disso, Cunha; Gomes (2014) ressaltam que a importância do tempo de embebição não é só para dar início às atividades fisiológicas da semente, como também para favorecer a retirada do tegumento e a exposição do embrião ao contato com a solução empregada.

Trabalhos relacionados à determinação do preparo das sementes para o teste de tetrazólio enfatizam a relevância desta fase para obtenção de metodologia adequada. Em trabalho realizado por Cunha; Gomes (2014), com sementes de mulungu (*Erythrina velutina* Willd), verificaram que o pré-umedecimento por 6 horas em água à temperatura ambiente e posterior retirada do tegumento foram suficientes para a avaliação das sementes pelo teste de tetrazólio. Para sementes de timbaúba (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong), recomenda-se lixar as sementes no lado oposto ao embrião e imersão por 24 horas em água (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014). Carvalho et al. (2017), com sementes de pau ferro (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*), concluíram que é necessário

realizar a escarificação com lixa n° 80, seguido de pré-umedecimento por 42 horas, a 25 °C, em rolo de papel.

Diante do exposto, para facilitar a remoção do tegumento e, conseqüentemente, favorecer a absorção de água e dar início às atividades metabólicas, optou-se pela realização do desponte das sementes na região oposta à micrópila antes do pré-umedecimento. Também foram testados novos períodos de embebição, concentração da solução do sal de tetrazólio e período de coloração (Figura 5).



**Figura 5.** Sementes de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul despontadas na região oposta à micrópila e pré-umedecidas sem o tegumento por 10 horas a 25 °C e posteriormente imersas na solução de tetrazólio por 4 horas nas concentrações de 0,05% (A), 0,1% (B) e 0,5% (C) a 35 °C.

As sementes sem o tegumento e pré-umedecidas por 10 horas e imersas na concentração de 0,05% por 4 horas a 35 °C não apresentaram coloração satisfatória para avaliação dos tecidos, principalmente na região da plúmula (Figura 5). Isto corrobora com Silva et al. (2013), que também relataram que a baixa concentração da solução, associada a um menor período de exposição das sementes ao sal de tetrazólio, pode provocar menor precisão na distinção da coloração dos tecidos nessa região, cuja coloração geralmente é menos intensa, o que dificulta a distinção entre tecidos vivos e mortos. Logo, essa concentração foi considerada insuficiente para a realização do teste de tetrazólio em sementes de *A. colubrina*. Por outro lado, a concentração de 0,1% proporcionou coloração satisfatória (Figura 5B), ao passo que na concentração de 0,5%, apesar de conseguir diferenciar os tecidos vivos, a coloração foi bastante intensa (Figura 5C).

Os resultados evidenciam que trabalhos visando ao preparo das sementes antes da realização do teste de tetrazólio são importantes para a padronização do teste, uma vez que este procedimento influencia na determinação do vigor e da viabilidade das sementes, podendo provocar avaliação errônea da qualidade fisiológica do lote de sementes se não for conduzido corretamente.

De acordo com os testes preliminares, o tempo de pré-umedecimento das sementes deve ser de 10 horas a 25 °C e, para o condicionamento das sementes no sal de tetrazólio, deve-se utilizar as concentrações de 0,075; 0,1 e 0,5% por 4, 6 e 8 horas, respectivamente.

### 3.3 Teste de tetrazólio

Entre as combinações de tratamentos e os sublotos, constatou-se interação significativa para a viabilidade das sementes ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ), em ambas as temperaturas (Tabela 4).

**Tabela 4.** Resumo da análise de variância da viabilidade dos sublotos de sementes de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altshul. submetidos a diferentes combinações de tetrazólio, nas temperaturas de 35 e 40 °C.

Fontes de variação	Quadrado médio		
	GL	Viabilidade	
		35 °C	40 °C
Sublotos (S)	2	4227,70**	247,11**
Combinações (C)	8	2953,04**	3766,0**
S x C	16	307,20**	444,62**
Erro	78	19,29	32,17
Média		48,48	43,33
CV (%)		9,04	13,09

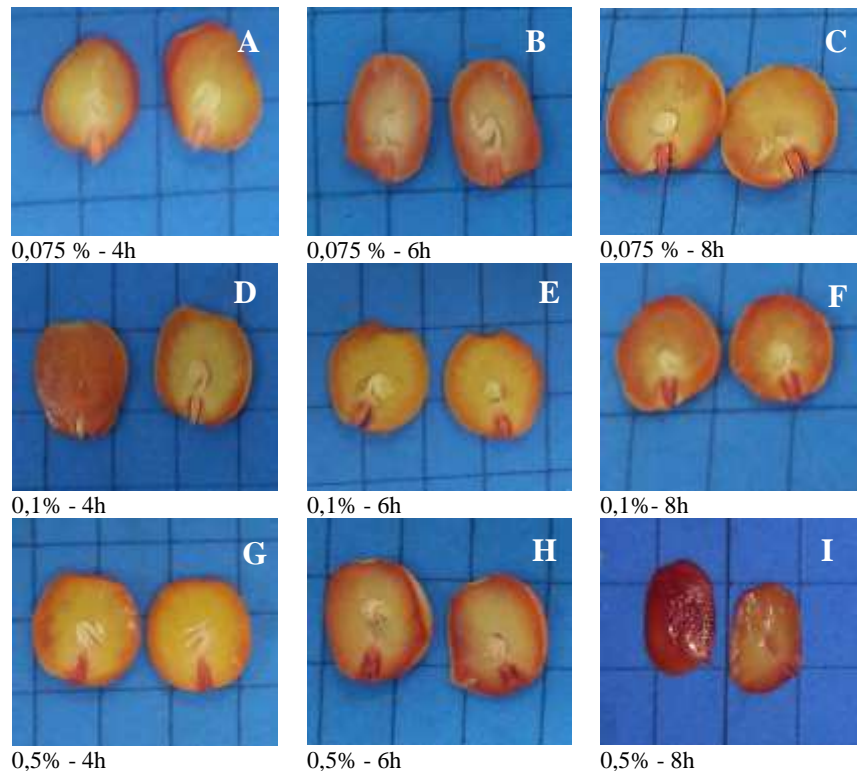
\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* Significativo ao nível de 5% de probabilidade; n.s – Não significativo.

No teste de tetrazólio na temperatura de 35 °C, a concentração de 0,075%/ 4 horas de exposição das sementes à solução proporcionou maior porcentagem de sementes viáveis para o subote 1, no entanto não diferiu da concentração 0,1%/ 4 horas (Tabela 5). Estas combinações, apesar de não terem ranqueado os sublotos, permitiram a identificação da porcentagem de viabilidade semelhante ao teste de emergência e germinação, além de terem proporcionado coloração rosa uniforme, indicando tecido vivo (Figuras 6A e 6D).

**Tabela 5.** Porcentagem de sementes viáveis de três sublotos de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul., submetidas a diferentes combinações entre períodos de coloração e concentrações do sal de tetrazólio a 35 e 40 °C.

Combinações (solução de tetrazólio x período de coloração)	Sublotos		
	1	2	3
35 °C			
C1 (0,075% / 4h)	81 aA	51 cC	61 bA
C2 (0,075% / 6h)	69 aB	55 bC	27 cC
C3 (0,075% / 8h)	49 bC	62 aB	44 bB
C4 (0,1% / 4h)	80 aA	75 aA	61 bA
C5 (0,1% / 6h)	64 aB	53 bC	48 bB
C6 (0,1% / 8h)	65 aB	53 bC	42 cB
C7 (0,5% / 4h)	53 aC	19 cE	31 bC
C8 (0,5% / 6h;)	47 aC	29 bD	16 cD
C9 (0,5% / 8h)	33 aD	23 bE	18 bD
40 °C			
C1 (0,075% / 4h)	52 bB	59 bA	68 aA
C2 (0,075% / 6h)	61 aA	58 aA	48 bB
C3 (0,075% / 8h)	50 bB	58 aA	48 bB
C4 (0,1% / 4h)	67 aA	46 bB	44 bB
C5 (0,1% / 6h)	45 bB	62 aA	63 aA
C6 (0,1% / 8h)	37 cC	65 aA	52 bB
C7 (0,5% / 4h)	45 aB	26 bC	23 bC
C8 (0,5% / 6h;)	20 aD	10 bD	18 aC
C9 (0,5% / 8h)	19 aD	26 aC	0 bD
Germinação (%)	85	72	60
Emergência (%)	79	59	60

\*Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.



**Figura 6.** Padrão de coloração das sementes viáveis e vigorosas de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altshul. para as combinações (0,075%/4, 6 e 8 horas – A, B e C); (0,1%/4, 6 e 8 horas – D, E e F) e (0,5%/4, 6 e 8 horas – G, H e I), a 35 °C.

Apesar das duas concentrações serem eficientes para a avaliação da viabilidade, França-Neto; Kryzanowski; Costa (1998) recomendam que as menores concentrações sejam as mais indicadas em resposta ao custo do sal de tetrazólio, contanto que possibilite visualizar modificações na coloração e permita distinguir os tipos de danos, que facilite a identificação dos tecidos viáveis e inviáveis e na aptidão de diferenciar lotes com qualidades fisiológicas distintas (AZEREDO; PAULA; VALERI, 2011).

Esses resultados foram concordantes com os verificados por Azeredo; Paula; Valeri (2011), em sementes de catanduva (*Piptocarpha moniliformis* (Benth.) Luckow & R. W. Jobson), quanto à eficiência da concentração do sal de tetrazólio a 0,075% durante quatro horas. Além disso, essa concentração já é indicada para avaliação da qualidade fisiológica de outras espécies florestais, como timbaúba (*E. contortisiliquum* (Vell.)) (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014); pereiro-vermelho (*Simira gardneriana* M.R. Barbosa & Peixoto) (OLIVEIRA et al., 2016) e catingueira (*P. pyramidalis*) (SOUZA et al., 2017), por diferentes períodos de coloração.

A concentração de 0,1% por 4 horas proporcionou ao sublote 2 maior porcentagem de sementes viáveis (75%), além de promover coloração nítida dos embriões (Figura 6),

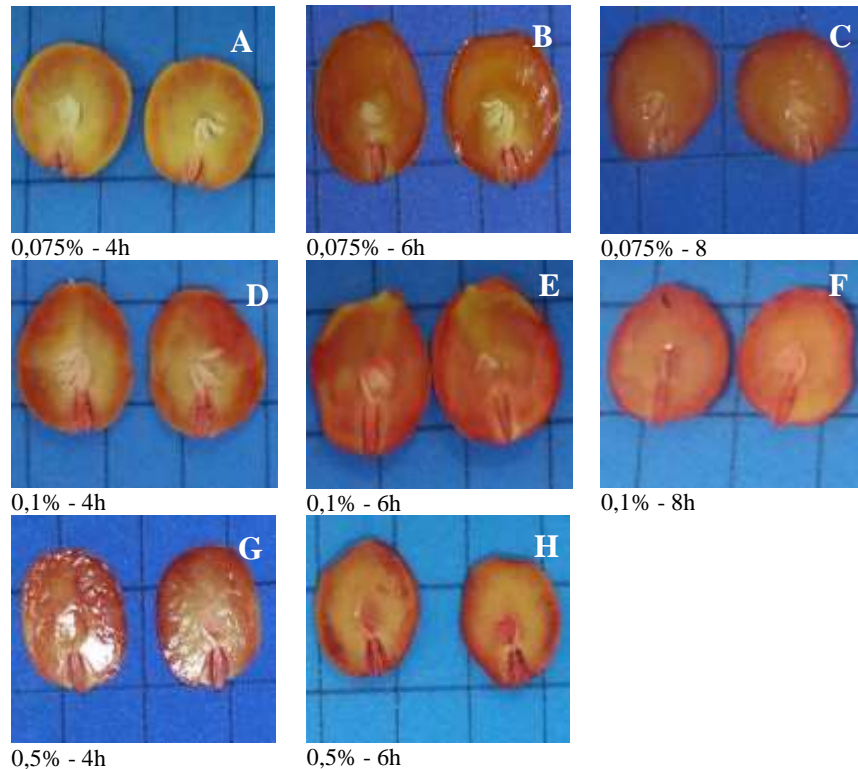
facilitando a análise e interpretação dos resultados para a maioria das sementes apontadas como viáveis (Tabela 5).

Ainda na temperatura de 35 °C, a concentração de 0,5% durante os períodos de exposição das sementes na solução resultou em baixa porcentagem de viabilidade. Os resultados de sementes viáveis obtidos para essa concentração são ainda mais expressivos para os sublotos 2 e 3, que não diferem entre si e não estão de acordo com a qualidade inicial dos sublotos (Tabela 5).

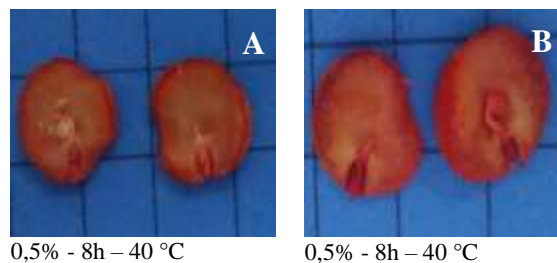
Apesar da evolução do processo de deterioração das sementes ser de difícil identificação morfológicamente (MARCOS-FILHO, 2015), verifica-se que para os sublotos 2 e 3 as combinações testadas permitiram a identificação desse processo e menor porcentagem de sementes viáveis, exceto para o sublote 2 nas concentrações 0,075%/ 8 horas e 0,1% por 4 horas a 35 °C (Tabela 5).

Vale ressaltar que, dentre os sublotos testados, as sementes do lote 3 apresentaram menor valor de viabilidade e menor germinação. Neste sublote, constatou-se também maior quantidade de sementes em processo de deterioração, o que pode ter contribuído para sua baixa qualidade fisiológica (Tabela 5).

Quando o teste de tetrazólio foi conduzido a 40 °C, as concentrações de 0,075%/ 6 horas e 0,1%/ 4 horas demonstraram resultados superiores para o sublote 1. Para o sublote 2, os melhores resultados foram obtidos para a concentração de 0,075% para os três períodos avaliados e para a concentração de 0,1%/ 6 e 8 horas. Por sua vez, as concentrações de 0,075%/ 4 horas e 0,1% por 6 horas proporcionaram maiores porcentagens de sementes viáveis para o sublote 3. Apesar de permitir a identificação de sementes viáveis, as concentrações e períodos para essa temperatura proporcionaram coloração mais intensa dos tecidos das sementes (Figura 7). Esse fato dificultou a análise das sementes, principalmente na maior concentração e período (0,5%/ 8h) para o sublote 3, e impossibilitou a distinção dos tecidos viáveis daqueles em deterioração (Figura 8).



**Figura 7.** Padrão de coloração das sementes viáveis e vigorosas de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul. para as combinações (0,075%/4, 6 e 8 horas – A, B e C); (0,1%/4, 6 e 8 horas – D, E e F) e (0,5%/4, 6 e 8 horas – G e H), a 40 °C.



**Figura 8.** Padrão de coloração das sementes inviáveis (A) e (B) de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul. na concentração de 0,5% sal de tetrazólio e período de coloração de 8 horas testados, a 40 °C.

Este resultado está associado a temperaturas elevadas, que podem afetar diferentes processos metabólicos, incluindo respiração (WAHID et al., 2007) e a elevação da temperatura promove aumento da taxa de respiração e, conseqüentemente, as reações de redução ocorrem mais rapidamente. A resposta à elevada atividade respiratória pode ser observada por meio do teste de tetrazólio pela intensificação da coloração (vermelho intenso) nos tecidos das sementes, principalmente no embrião, o que impossibilita a avaliação da viabilidade (Figura 8).

Embora a temperatura de 40 °C tenha possibilitado a avaliação da viabilidade das sementes de *A. colubrina*. A porcentagem de sementes viáveis foi inferior à obtida no teste de



germinação e emergência, portanto esta temperatura não é indicada para avaliar a qualidade fisiológica desta espécie por meio do teste de tetrazólio.

Apesar do teste de tetrazólio ser bastante utilizado para avaliar a viabilidade das sementes, este teste também possibilita a estimativa do vigor das sementes (MARCOS-FILHO, 2015) e na tabela 6 verifica-se efeito significativo dos fatores, 3 sublotos e 9 combinações, para as temperaturas de 35 e 40 °C.

**Tabela 6.** Resumo da análise de variância para diferentes classes de vigor de sublotos de sementes de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altshul. submetidas a diferentes combinações (concentração e períodos no sal de tetrazólio), a 35 e 40 °C.

35 °C					
Fontes de variação	GL	Classe I	Classe II	Classe III	Classe IV
Sublotos (S)	2	4837,93**	449,33**	432,44**	3877,48**
Combinação das concentrações da solução de tetrazólio e os períodos de coloração (C)	8	2985,93**	101,67**	1782,33**	510,04**
S x C	16	393,26**	82,67**	132,28**	415,98**
Erro	78	25,23	31,07	33,71	41,42
Média		32,93	14,56	21,0	31,52
CV (%)		10,94	21,77	16,66	
40 °C					
Sublotos (S)	2	45,04 <sup>n.s</sup>	491,26**	324,59**	325,48*
Combinação das concentrações da solução de tetrazólio e os períodos de coloração (C)	8	3473,70**	232,37**	3172,37**	187,04*
S x T	16	222,54**	169,26**	250,93**	207,15**
Erro	78	33,43	27,40	38,07	77,72
Média		27,19	16,15	24,52	32,15
CV (%)		15,14	19,29	15,20	

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* Significativo ao nível de 5% de probabilidade; n.s – Não significativo.

Com isso, ao avaliar a qualidade fisiológica das sementes de *A. colubrina* pelo teste de tetrazólio, foi possível identificar as sementes nas quatro classes pré-determinadas para a temperatura de 35 °C. Com relação às classes, é possível identificar a redução da porcentagem de sementes viáveis e vigorosas com o aumento das concentrações de sal de tetrazólio e período de coloração para os três sublotos a 35 °C. O sublote 1 apresenta maior porcentagem nas concentrações de 0,075% e 0,1% por 4 horas, porém nas demais combinações o sublote 1 apresenta maiores resultados em relação aos sublotos 2 e 3, exceto na concentração de 0,075%/ 8 horas. Para o sublote 2, a concentração de 0,075% por 6 e 8 horas promoveu melhores resultados e não diferiu da concentração 0,1% por 4 horas. Para o sublote 3, obteve maior porcentagem de sementes viáveis e vigorosas também na combinação 1 (Tabela 7).

**Tabela 7.** Classes de vigor de sementes de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul. submetidas a diferentes concentrações de sal de tetrazólio e período de exposição à temperatura de 35 °C.

Combinções (solução de tetrazólio x período de coloração)	35 °C		
	Sublotes		
	1	2	3
Classe I			
C1 (0,075% / 4h)	72 aA	30 cB	50 bA
C2 (0,075% / 6h)	60 aB	44 bA	23 cC
C3 (0,075% / 8h)	36 bC	46 aA	27 cC
C4 (0,1% / 4h)	68 aA	50 bA	23 cC
C5 (0,1% / 6h)	55 aB	34 bB	37 bB
C6 (0,1% / 8h)	53 aB	32 bB	33 bB
C7 (0,5% / 4h)	26 aD	6 bC	19 aD
C8 (0,5% / 6h)	30 aD	9 bC	4 bE
C9 (0,5% / 8h)	15 aE	4 bC	3 bE
Classe II			
C1 (0,075% / 4h)	9 bC	21 aA	11 bA
C2 (0,075% / 6h)	9 aC	11 aB	4 aA
C3 (0,075% / 8h)	13 aC	16 aB	17 aA
C4 (0,1% / 4h)	12 bC	25 aA	11 bA
C5 (0,1% / 6h)	9 bC	19 aA	11 bA
C6 (0,1% / 8h)	12 aB	21 aA	9 bA
C7 (0,5% / 4h)	27 aA	13 bB	12 bA
C8 (0,5% / 6h)	17 aB	20 aA	12 aA
C9 (0,5% / 8h)	18 aB	19 aA	15 aA
Classe III			
C1 (0,075% / 4h)	9 aC	14 aD	15 aC
C2 (0,075% / 6h)	8 bC	20 aD	17 aC
C3 (0,075% / 8h)	21 aB	11 bD	12 bC
C4 (0,1% / 4h)	11 aC	7 aD	11 aC
C5 (0,1% / 6h)	12 bC	25 aC	23 aB
C6 (0,1% / 8h)	12 aC	15 aD	13 aC
C7 (0,5% / 4h)	25 bB	35 aB	27 bB
C8 (0,5% / 6h)	18 bB	40 aB	20 bB
C9 (0,5% / 8h)	40 bA	51 aA	55 aA
Classe IV			
C1 (0,075% / 4h)	10 cC	35 aB	24 bC
C2 (0,075% / 6h)	23 bB	25 bC	56 aA
C3 (0,075% / 8h)	30 bA	27 bC	44 aB
C4 (0,1% / 4h)	9 bC	18 bC	55 aA
C5 (0,1% / 6h)	24 aB	22 aC	29 aC
C6 (0,1% / 8h)	23 bB	32 bB	45 aB
C7 (0,5% / 4h)	22 bB	46 aA	42 aB
C8 (0,5% / 6h)	35 bA	31 bB	64 aA
C9 (0,5% / 8h)	27 aB	26 aC	27 aC

\*Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

A identificação de sementes de alto vigor é muito importante, pois produzem plantas capazes de se desenvolver, com maior desempenho, em diversas condições edafoclimáticas.

Além disso, plântulas fortes, vigorosas, bem desenvolvidas com maior velocidade de emergência e de desenvolvimento em campo (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI; HENNING, 2010) são características desejáveis pelos produtores de mudas.

Para a classe II, as maiores porcentagens de sementes viáveis e não vigorosas a 35 °C foram obtidos para o subote 1 na concentração de 0,5%/ 4 horas, ao passo que os menores resultados são oriundos da concentração de 0,075%/ 4, 6 e 8 horas e na concentração de 0,1% por 4 e seis horas. Para o subote 2, a concentração 0,075%/ 6 e 8 horas e a concentração de 0,5%/ 4 horas proporcionaram resultados inferiores, mostrando que concentração baixa por longos períodos e concentração alta por curto período proporcionam resultados semelhantes e dificultam a identificação de sementes viáveis e não vigorosas pela coloração excessiva dos tecidos. Este resultado aumenta quando a qualidade fisiológica da semente já está comprometida (Tabela 7).

A determinação dessa classe é dada por meio da observação das áreas vitais da semente nas quais não são comprometidas, portanto haverá formação de uma plântula normal, mas isso não garante que ela conseguirá se estabelecer em condições ambientais adversas, principalmente se a quantidade de reserva não for suficiente para o prosseguimento do desenvolvimento da planta.

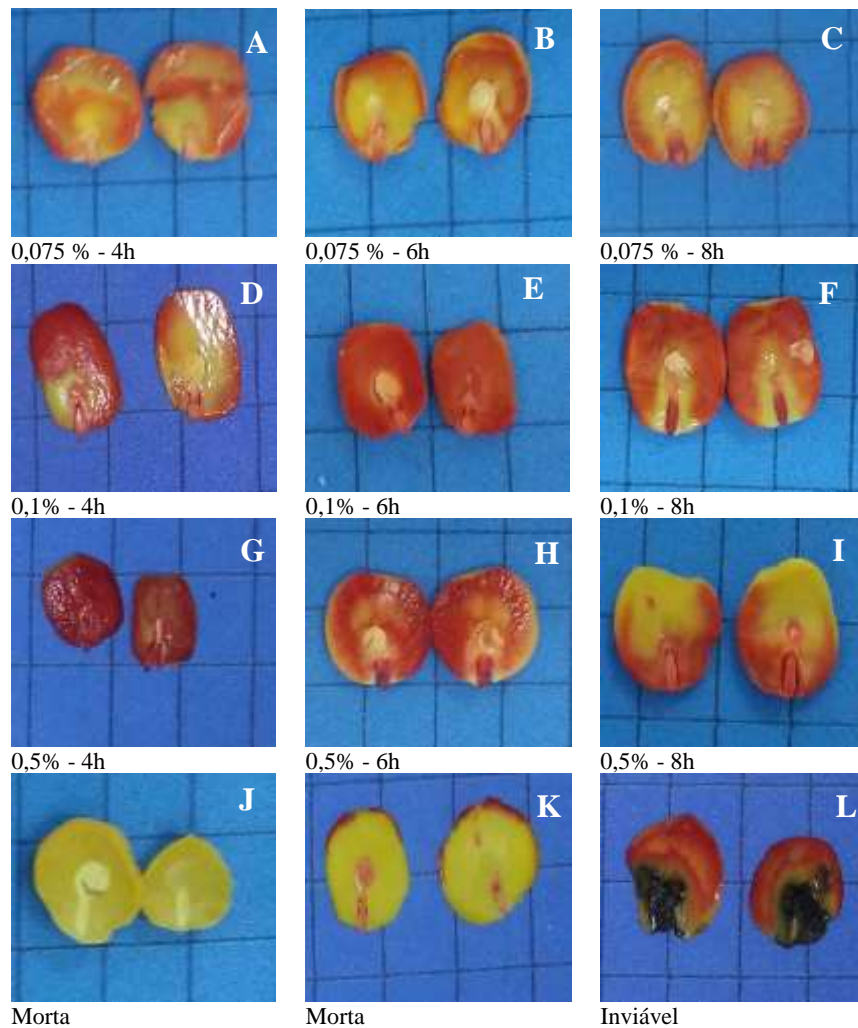
No subote 3, não houve diferença significativa entre as combinações testadas. Dentre os subotes testados, este foi o que obteve os menores valores de viabilidade e vigor, como também os menores valores de germinação. A maior concentração (0,5%) por 6 e 8 horas de coloração proporcionou estimativas de sementes viáveis e não vigorosas semelhantes para os três subotes, mesmo depois dos subotes 2 e 3 terem sofrido deterioração (Tabela 7).

Por outro lado, esse grau de deterioração se torna mais visível ao avaliar a porcentagem de sementes inviáveis (Classe III). Os menores resultados foram observados na menor concentração e período de coloração e, na medida em que os valores dessas combinações aumentam, para os subotes 2 e 3 verificou-se maior número de sementes inviáveis (Tabela 7).

Ao avaliar a porcentagem de sementes mortas (Classe IV), os maiores resultados foram obtidos na combinação 7 (0,5%/ 4h) para o subote 2, para a combinação 8 (0,5%/6h) para os subotes 1 e 3 (Tabela 7).

Sementes mortas são identificadas pela presença de tecidos descolorido, branco ou esverdeado. Por sua vez, tecidos muito deteriorados apresentam coloração vermelho intenso, de forma que as alterações no padrão de coloração e possível prejuízo às áreas vitais estão diretamente relacionados com a análise da viabilidade e do vigor das sementes (Figura 9).

Além disso, alta concentração, associada ou não ao longo período de exposição das sementes ao sal de tetrazólio, interferiu nos resultados da análise da viabilidade e vigor das sementes. Isto é perceptível através da coloração vermelho intenso dos tecidos. Logo, dificulta a classificação das sementes que seriam viáveis, para uma classe de sementes em deterioração (inviáveis).



**Figura 9.** Padrão de coloração das sementes inviáveis e mortas de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altshul. nas concentrações de sal de tetrazólio (0,075, 0,1 e 0,5%) e períodos de coloração (4, 6 e 8 horas) testados.

Na temperatura de 40 °C, também foi possível distinguir os sublotes de sementes em quatro classes. Na classe I, verificou-se redução das sementes viáveis e vigorosas como o aumento das concentrações do sal de tetrazólio e períodos de coloração para os três sublotes. Para o sublote 1, a concentração de 0,075%/ 6h e 0,1%/ 4h demonstram resultados superiores e diferem dos sublotes 2 e 3. As concentrações de 0,075%/ 4h e 0,1%/ 6h proporcionaram resultados superiores para os sublotes 2 e 3, respectivamente (Tabela 8).

**Tabela 8.** Classes de vigor de sementes de *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altshul. submetidas a diferentes concentrações de sal de tetrazólio e período de exposição à temperatura de 40 °C.

Combinações (solução de tetrazólio x período de coloração)	40 °C		
	Sublotes		
	1	2	3
Classe I			
C1 (0,075% / 4h)	41 bB	49 aA	55 aA
C2 (0,075% / 6h)	45 aA	28 bB	39 aB
C3 (0,075% / 8h)	38 aB	35 aB	32 aB
C4 (0,1% / 4h)	49 aA	35 bB	33 bB
C5 (0,1% / 6h)	29 bC	42 aA	49 aA
C6 (0,1% / 8h)	18 bD	32 aB	28 aB
C7 (0,5% / 4h)	24 aC	8 bC	9 bC
C8 (0,5% / 6h)	2 aE	5 aC	9 aC
C9 (0,5% / 8)	0 aE	0 aC	0 aD
Classe II			
C1 (0,075% / 4h)	11 aA	10 aC	13 aB
C2 (0,075% / 6h)	16 bA	30 aA	9 bC
C3 (0,075% / 8h)	12 bA	23 aB	16 bB
C4 (0,1% / 4h)	18 aA	11 aC	11 aC
C5 (0,1% / 6h)	16 aA	20 aB	14 aB
C6 (0,1% / 8h)	19 bA	33 aA	24 bA
C7 (0,5% / 4h)	21 aA	18 aB	14 aB
C8 (0,5% / 6h)	18 aA	5 bC	9 bC
C9 (0,5% / 8h)	19 aA	26 aA	0 bD
Classe III			
C1 (0,075% / 4h)	11 aC	12 aC	13 aD
C2 (0,075% / 6h)	11 bC	12 bC	21 aC
C3 (0,075% / 8h)	14 aC	19 aC	10 aD
C4 (0,1% / 4h)	10 bC	15 bC	22 aC
C5 (0,1% / 6h)	20 aB	15 aC	10 aD
C6 (0,1% / 8h)	21 aB	14 aC	17 aD
C7 (0,5% / 4h)	18 cB	37 aB	27 bC
C8 (0,5% / 6h)	41 cA	64 aA	51 bB
C9 (0,5% / 8h)	44 bA	43 bB	70 aA
Classe IV			
C1 (0,075% / 4h)	37 aA	29 aA	19 bB
C2 (0,075% / 6h)	28 aA	30 aA	31 aB
C3 (0,075% / 8h)	33 aA	23 bA	42 aA
C4 (0,1% / 4h)	23 bA	39 aA	34 aB
C5 (0,1% / 6h)	35 aA	23 aA	27 aB
C6 (0,1% / 8h)	39 aA	21 bA	32 aB
C7 (0,5% / 4h)	37 bA	37 bA	50 aA
C8 (0,5% / 6h)	42 aA	26 aA	33 aB
C9 (0,5% / 8h)	37 aA	31 aA	30 aB

\*Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

A utilização da concentração de 0,5% reduziu a porcentagem de sementes viáveis e vigorosas, resultado agravado no período de coloração de 8 horas, que impossibilitou classificação das sementes nesta classe (Tabela 8).

Na classe II (viáveis e não vigorosas), verifica-se que as combinações, concentrações da solução de tetrazólio e os períodos de coloração não diferiram para o sublote I. Já para o sublote II, as combinações 0,075%/ 6h, 0,1% e 0,5%/ 8h demonstraram melhores resultados. Para o sublote III, a maior porcentagem foi obtida na concentração 0,1%/ 8 horas. Por outro lado, a concentração 0,5% por 8 horas não permitiu a classificação de sementes viáveis e não vigorosas (Tabela 8).

A inexistência de sementes viáveis e não vigorosas para o sublote 3 na combinação 9 pode estar relacionada ao envelhecimento acelerado por 24 horas ao qual as sementes foram submetidas. Nesta situação de estresse, as sementes absorveram água em ambiente úmido e quente, afetando o sistema de membrana e o mecanismo energético, resultando na redução da resistência ao armazenamento, na tolerância aos estresses ambientais (MARCOS-FILHO, 2015) e, conseqüentemente, na redução do vigor e da viabilidade das sementes, o que corrobora com os resultados encontrados nessa pesquisa.

Combinado a isto, a temperatura de 40 °C resultou em alta porcentagem de sementes inviáveis para os três sublotos na concentração de 0,5%/ 6 e 8 horas. Este resultado é mais elevado para o sublote 3, alcançando 70% de sementes inviáveis (classe III). Portanto, este resultado demonstra a importância da escolha da melhor temperatura e tratamento a ser utilizado para avaliar a qualidade fisiológica de sementes e quando estas são avaliadas em classes de vigor é possível perceber erros de classificação quando a coloração é excessiva e não somente pela deterioração dos tecidos, como apresentado neste trabalho (Tabela 8).

Em relação à classe IV (sementes mortas), para os sublotos 1 e 2 não há diferença entre as combinações. Já para o sublote 3, a maior porcentagem de sementes mortas foi obtida na concentração de 0,075%/ 8h, a qual não diferiu da combinação de 0,5%/ 4 horas com 50%, resultado que justifica a baixa porcentagem de sementes nas classes I e II (Tabela 8). A identificação de sementes de baixa qualidade, antes da sua utilização, permite ao produtor descartar lotes de sementes e, conseqüentemente, reduzir custos de produção que onerariam o empreendimento.

Outros trabalhos têm sido realizados e avaliam as sementes em classes de vigor e viabilidade ou em categorias, como, por exemplo, trabalho realizado por Corte et al. (2010) em sementes *Melanoxylon brauna* Schot. e Pinho et al. (2011) em sementes de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg., que classificaram as sementes através do teste de

tetrazólio em nove categorias de sementes viáveis e inviáveis. Para Masullo et al. (2017), a classificação foi realizada para três níveis de vigor para sementes de *P. floribundum*, *L. muehlbergianus* e *A. polyphylla*.

Para sementes de *Glycine max*, a classificação é realizada em oito classes de vigor e identifica os tipos e área do dano (FRANÇA-NETO; KRYZANOWSKI; COSTA, 1998). Para esta espécie, o teste de tetrazólio é bastante utilizado em laboratórios de análises de sementes e por empresas produtoras de sementes, sobretudo porque possibilita a avaliação da viabilidade em 9 horas, ao passo que o teste de germinação tem duração de oito dias (BRASIL, 2009).

Diante do exposto, é evidente a importância da padronização do teste de tetrazólio para as espécies individualmente, especialmente porque a resposta difere. Para a *A. colubrina*, a análise da viabilidade pode ser realizada em 14 horas, na medida em que pelo teste de germinação a duração é de 10 dias.

#### 4 CONCLUSÃO

Para o preparo das sementes de *A. colubrina*, é indicado desponte na região oposta à micrópila, seguido de umedecimento direto em água por 10 horas, a 25 °C, com posterior remoção do tegumento antes da imersão no sal de tetrazólio.

A combinação 0,075% por quatro horas, a 35 °C, é eficiente para avaliação da viabilidade e vigor de sementes de *A. colubrina*.



## REFERÊNCIAS

- AÑEZ, L. M. M. et al. Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p.82-88, set./dez. 2007. Disponível em: <[http://www.sbpmed.org.br/download/issn\\_07\\_3/artigo12\\_v9\\_n3.pdf](http://www.sbpmed.org.br/download/issn_07_3/artigo12_v9_n3.pdf)>. Acesso em: 29 de out. 2018.
- AQUINO, G. S. et al. Accelerated aging of *Piptadenia moniliformis* (BENTH.) seeds. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 3, p. 681-686, jul./set. 2018. Disponível em: <<https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/caatinga/article/view/7050>>. Acesso em: 09 de dez. 2018.
- ARAÚJO, A. M. S. et al. Caracterização morfológica e germinação de sementes de *Macroptilium martii* BENTH. (FABACEAE). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 27, n. 3, p. 124-131, jul./set. 2014. Disponível em: <<file:///C:/Users/kleane/Downloads/3641-Artigo%20de%20submissão-14476-1-10-20140926.pdf>>. Acesso em: 10 de dez. 2018.
- ARAÚJO, R. B.; REIS, F. C.; NOVENBRE, A. D. L. C. Preparo de sementes de corda-de-violão para o teste de tetrazólio utilizando micro-ondas. **Multi-Science Journal**, Urutaí, v. 1, n. 4, p. 7-11, out./nov. 2016. Disponível em: <<https://www.ifgoiano.edu.br/periodicos/index.php/multiscience/article/view/108/95>>. Acesso em: 26 de jan.2018.
- AZEREDO, G. A.; PAULA, R. C.; VALERI, S. V. Viabilidade de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 61-68, jan./ mar. 2011. Disponível: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010131222011000100007](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010131222011000100007)>. Acesso em: 30 de out. 2018.
- BEWLEY, J. D. et al. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3rd ed. New York: SPRINGER-VERLAG, 2013. 376 p.
- BHERING, M. C. et al. **Avaliação da viabilidade e do vigor das sementes de feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio**. Viçosa: UFV, 1996. 27 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2013. 98 p.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.
- CARVALHO, S. M. C. et al. Viability of *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea* seeds by tetrazolium test. **Journal of Seed Science**, Londrina, v.39, n.1, p.007-012, jan./mar. 2017. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2317\\_15372017000100007](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317_15372017000100007)>. Acesso em: 03 abr. 2018.

CROMARTY, A. S.; ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. **Design of seed storage facilities for genetic conservation**. Rome: INTERNACIONAL BOARD OF PLANT GENETIC RESOURCES, 1985. 100 p.

CUNHA, M. C. L.; GOMES, I. H. R. A. Viabilidade de sementes de *Erythrina velutina* Willd pelo teste de tetrazólio. **Nativa**, Sinop, v. 3, n. 3, p. 196-200, jul./set. 2014. Disponível em: <<http://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/nativa/article/view/2304>>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dec. 2011. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-70542011000600001](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542011000600001)>. Acesso em: 07 de set. 2018.

FOGAÇA, C. A. et al. Teste de tetrazólio em sementes de *Copaifera langsdorffii* E *Schizolobium parahyba*. **Floresta**, Curitiba, v. 41, n. 4, p. 895-904, out./dez. 2011. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/25352>>. Acesso em: 07 de set. 2018.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. A importância do uso de sementes de soja de alta qualidade. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 20, n. 1-2, p. 37-38, 2010. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/661047/1/ID30537.pdf>>. Acesso em: 12 de dez. 2018.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA/ CNPSO, 1998. 72 p. Disponível em: <<https://www.agrolink.com.br/downloads/TRETRAZ%C3%93LIO.pdf>>. Acesso em: 10 de dez. 2017.

GUARESCHI, D. G. et al. Envelhecimento acelerado de sementes e qualidade de plântulas de *Bauhinia forficata* Link em diferentes substratos e tamanhos de tubetes. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 9, n. 1, p. 65-71, jan./mar. 2015. Disponível em: <<https://revista.ufr.br/agroambiente/article/view/2175/1513>>. Acesso em: 19 de jan. 2018.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: SECRETARIA GERAL DA ORGANIZAÇÃO DOS ESTADOS AMERICANOS, 1983. 174 p.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. Fortaleza: PRINTCOLOR GRÁFICA E EDITORA, 2012. 413 p.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, mar. 1962. Disponível em: <<https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/2/2/CS0020020176/preview/pdf>>. Acesso em: 02 de fev. 2018.

MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (org.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1- 24.

MARCOS-FILHO, J.. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed., Londrina: ABRATES, 2015. 660 p.

MASULLO, L. S. et al. Optimization of tetrazolium tests to assess the quality of *Platymiscium floribundum*, *Lonchocarpus muehlbergianus* and *Acacia polyphylla* DC. Seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 39, n. 2, p. 189-197, apr./jun. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2317-15372017000200189](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372017000200189)>. Acesso em: 26 jan. 2018.

MELLO, J. I. O.; BARBEDO, C. J. Temperatura, luz e substrato para germinação de sementes de Pau-Brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae - Caesalpinioideae). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 4, p. 645-655, out./dez. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rarv/v31n4/09.pdf>>. Acesso em: 07 de set. 2018.

MENDES, A. M. S.; BASTOS, A. A.; MELO, M. G. G. Padronização do teste de tetrazólio em sementes de *Parkia velutina* Benoist (Leguminosae - Mimosoideae). **Revista Acta Amazônica**, Manaus, v. 39, n. 4, p. 823-828, out./ nov. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S004459672009000400010&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S004459672009000400010&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 03 de dez. 2018.

NOGUEIRA, N. W.; TORRES, S. B.; FREITAS, R. M. O. Teste de tetrazólio em sementes de timbaúba. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 6, p. 967-2975, nov./dez. 2014. Disponível em: <[http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/14704/pdf\\_521](http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/14704/pdf_521)>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

NEPOMUCENO, C. F. et al. Respostas morfofisiológicas *in vitro* de plântulas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb) Altschul. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 481-490, mai./jun. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-67622009000300010&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622009000300010&lng=pt&tlng=pt)>. Acesso em: 07 de set. 2018.

OLIVEIRA, K. S.; OLIVEIRA, K. S.; ALOUFA, A. A. I. Influência de substratos na germinação de sementes de *Anadenanthera colubrina* (VELL.) Brenan em condições de casa de vegetação. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 1073-1078, nov./dez. 2012. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-67622012000600008&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622012000600008&lng=pt&tlng=pt)>. Acesso em: 06 de set. 2018.

PINHO, D. S. et al. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de angico. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 31, n. 67, p. 269-272, jul./set. 2011. Disponível em: <<https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/197>>. Acesso em: 12 de set. 2018.

SILVA, R. S. et al. Qualidade fisiológica de sementes de sorgo biomassa (*Sorghum bicolor* L. Moench). **Revista Espacios**, Caracas, v. 37, n. 31, p. 12, jun. 2016. Disponível em: <<http://www.revistaespacios.com/a16v37n31/16373112.html>>. Acesso em: 07 de set. 2018.

SILVA, R. C. et al. Adaptação do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 1, p. 105-113, jan. 2013. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-204X2013000100014&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2013000100014&lng=pt&tlng=pt)>. Acesso em: 07 de set. 2018.

SILVA, B. A. et al. Critérios para condução do teste de tetrazólio em sementes de araucária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 1, p. 61-68, jan. 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v51n1/1678-3921-pab-51-01-00061.pdf>>. Acesso em: 12 de set. 2018.

SOUZA, D. M. M. et al. Viabilidade e vigor de sementes de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz pelo teste de tetrazólio. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 48, n. 2, p. 381-388, abr./jun. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S180666902017000200381&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S180666902017000200381&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 12 de set. 2018.

WAHID, A. et al. Heat tolerance in plants: An overview. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdã, v. 61, p. 199-223, 2007. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098847207000871>>. Acesso em: 29 de out. 2018.

### **CAPÍTULO III**

## **TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke**

## RESUMO

Para a formação de novas áreas, a qualidade das sementes é primordial e dela depende o sucesso do empreendimento florestal, o que ressalta a importância do desenvolvimento e aprimoramento de testes rápidos e eficientes que permitam a avaliação da viabilidade e vigor inicial das sementes. Dessa forma, o teste de tetrazólio constitui uma das alternativas promissoras para determinação rápida de viabilidade de sementes dormentes, recalcitrantes e de germinação lenta. Para realização do teste, é necessário o uso de metodologia adequada, determinando as melhores condições para a condução deste. Dessa forma, objetivou-se estabelecer o procedimento adequado do teste de tetrazólio para estimar a viabilidade e vigor em sementes de *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke. Para isto, uma amostra de sementes de *P. stipulacea* foi submetida a um conjunto de peneiras de crivo redondo e separadas pela largura em grandes, médias e pequenas, correspondendo a seis, cinco e quatro milímetros de diâmetro, respectivamente, para obtenção de três sublotos. O experimento foi realizado em duas etapas, sendo na primeira etapa determinada a qualidade inicial das sementes pelo teste de germinação, emergência, índice de velocidade de germinação, emergência, tempo médio de germinação e emergência, além do modo de preparo das sementes para o teste de tetrazólio. Após a determinação do melhor método de preparo das sementes para o teste de tetrazólio, deu-se início à segunda etapa do experimento, cujo delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x9, sendo três sublotos e nove combinações entre concentrações e tempo de imersão no sal de tetrazólio (0,05%/ 2h; 0,05%/ 4h; 0,05%/ 6h; 0,075%/ 2h; 0,075%/ 4h; 0,075%/ 6h; 0,1%/ 2h; 0,1%/ 4h; 0,1%/ 6h), totalizando vinte e sete tratamentos com quatro repetições de 25 sementes, avaliados separadamente a 35 e 40 °C. Após cada tratamento, as sementes foram lavadas, cortadas longitudinalmente e divididas em quatro classes: sementes viáveis e vigorosas (classe I), viáveis e não vigorosas (classe II), inviáveis (classe III) e mortas (classe IV). A porcentagem de viabilidade foi obtida através da soma da classe I e classe II. Conclui-se que no preparo das sementes antes do teste, deve ser realizado o desponte na região oposta à micrópila, com posterior embebição em água por 8 horas a 25 °C, seguido da remoção do tegumento antes da imersão no sal de tetrazólio. Para avaliação da viabilidade e vigor de sementes de *P. stipulacea*, deve-se utilizar a concentração do sal de tetrazólio de 0,075% por quatro horas, a 35 e 40 °C.

**Palavras-chave:** Fabaceae. Teste bioquímico. Viabilidade. Espécie florestal. Trifenilforozan.

## ABSTRACT

In order to form new areas, seed quality is paramount and depends on the success of the forest enterprise, which emphasizes the importance of the development and improvement of fast and efficient test that allow the evaluation of seed viability and initial vigor. Thus, the tetrazolium test is one of the promising alternatives for rapid determination of viability of dormant, recalcitrant and slow germinating seeds. To perform the test, it is necessary the use of adequate methodology, determining the best conditions for conduction of this. Thus, the objective was to establish the appropriate tetrazolium test procedure to estimate the viability and vigor of *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke. For this, a sample of seeds was submitted to a set of round sieves and separated by the width in large, medium and small, corresponding to six, five and four millimeters of diameter, respectively, to obtain sub-lots. The experiment was carried out in two stages; in the first stage, the initial seed quality was determined by the germination, emergence, germination and emergency germination index and the mean germination and emergence time, and the seed preparation method for the test of tetrazolium. After the determination of the best method of preparation of the seeds for the tetrazolium test, the second stage of the experiment was started. The experimental design was completely randomized, in a 3x9 factorial scheme, three sublots and nine combinations between concentrations and time of immersion in tetrazolium salt (0.05%/ 2h, 0.05%/ 4h, 0.05%/ 6h, 0.075%/ 2h, 0.075%/ 4h, 0.075%/ 6h, 0.1%/ 2h, 0.1%/ 4h, 0.1%/ 6h), totaling twenty-seven treatments with four replicates of 25 seeds, evaluated separately at 30 and 40° C. After each treatment, the seeds were washed, cut longitudinally and divided into four classes: viable and vigorous (class I), viable and non-vigorous (class II), non-viable (class III) and dead (class IV) seeds. The percentage of viability was obtained through the sum of class I and class II. It is concluded that, during the preparation of the seeds before the test, the splitting should be performed in the region opposite the micropyle, with subsequent soaking in water for 8 hours at 25 °C, followed by removal of the tegument before immersion in the salt of tetrazolium. To evaluate the viability and vigor of *P. stipulacea* seeds, the concentration of tetrazolium salt of 0.075% should be used for four hours at 35 and 40 °C.

**Keywords:** Fabaceae. Biochemical test. Viability. Forestry species. Triphenylformozan.

## 1 INTRODUÇÃO

*Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke, mais conhecida no Nordeste Brasileiro como jurema-branca, pertence à família Fabaceae, possui pequeno porte, atingindo entre 2 a 4 metros de altura, apresenta caule na cor castanho-claro com presença de acúleos nos ramos. Ocorre praticamente em toda a Caatinga, desde o Piauí até a Bahia, possui diversas utilidades como madeireira, apícola, forrageira, além de ser indicada para recuperação de solos, combatendo a erosão e seu principal meio de multiplicação é por sementes, as quais apresentam dormência tegumentar (MAIA, 2012).

Para a formação de novas áreas que incluam a jurema-branca, a qualidade das sementes é fundamental, ressaltando-se a importância do desenvolvimento e aprimoramento de testes rápidos e eficientes que permitam a avaliação da viabilidade e vigor inicial das sementes. Dessa forma, o teste de germinação em laboratório ainda é tradicionalmente utilizado para avaliação da viabilidade de várias espécies, no entanto, em alguns casos, requer longos períodos para tomada de decisão, limitando o controle de qualidade.

Para jurema-branca, a recomendação quanto à duração do teste de germinação é de 10 dias após tratamento pré-germinativo (BENEDITO et al., 2019), e para a emergência de plântulas a duração do teste é de 14 dias (FARIAS et al., 2013). Por esses motivos, é de grande importância o desenvolvimento de testes rápidos caracterizando a qualidade das sementes desta espécie. Dentre esses testes, destaca-se o teste de tetrazólio, que permite a determinação rápida da viabilidade de sementes dormentes, recalcitrantes e daquelas que germinam lentamente durante testes de rotina (BRASIL, 2009). Além da viabilidade, ele propicia informações valiosas sobre o vigor, constituindo alternativa complementar promissora, já tendo sido adotado para algumas espécies.

No entanto, diversos fatores interferem na condução do teste de tetrazólio, como, por exemplo, a concentração da solução, a temperatura de condução, o tempo de exposição das sementes e o preparo das sementes antes da coloração (PAIVA et al., 2017).

Estudos com adequação de metodologias do teste de tetrazólio para avaliação do vigor de espécies florestais nativas foram realizados em sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (LAMARCA; LEDUC; BARBEDO, 2009), *Amburanda cearensis* (Allem.) A. C. Smith. (GUEDES et al., 2010), *Piptadenia moniliformis* Benth. (AZEREDO; PAULA; VALERI, 2011), *Enterelobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014), *Cassia grandis* L. F. (SANTOS et al., 2016) e *Parkia multijuga* Benth. (COSTA et al., 2018).



Devido à importância florestal da espécie e escassez de informações sobre metodologia adequada para a condução desse teste para análise sementes de *P. stipulacea*, objetivou-se estabelecer o procedimento adequado do teste de tetrazólio para estimar a viabilidade e vigor em sementes de *P. stipulacea* (Benth.) Ducke.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Origem das sementes**

As sementes de *P. stipulacea* foram obtidas, em 2011, a partir de frutos maduros coletados em vinte matrizes, sendo dez localizadas no campus da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA (5°12'51``S; 37°18' 44,7``O) e mais dez nas proximidades do Instituto Federal do Rio Grande do Norte – IFRN (5°12'58,8``S; 37°18'51,65``O), ambas localizadas no município de Mossoró – RN. Logo após a coleta, as sementes foram selecionadas, retirando-se as quebradas, trincadas e atacadas por insetos, e depois acondicionadas em frascos de vidro e armazenadas em ambiente controlado (16-18 °C e 40% de umidade relativa) até a realização do experimento.

### **2.2 Local de realização do experimento**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), em Mossoró-RN, durante o período de agosto de 2017 a janeiro de 2018. Inicialmente, os sublotes foram caracterizados e submetidos às seguintes avaliações:

### **2.3 Caracterização da qualidade inicial da espécie**

#### **2.3.1 Obtenção de sublotes**

Para obtenção de sublotes, as sementes de *P. stipulacea* foram classificadas em peneiras de crivo redondo com diâmetros de 6, 5 e 4 mm, classificando as sementes em grandes, médias e pequenas, respectivamente.

#### **2.3.2 Teor de água e curva de embebição**

Determinou-se o teor de água das sementes pelo método da estufa a  $105\pm 3^{\circ}\text{C}$  por 24 horas (BRASIL, 2009), com duas repetições de  $4,5 \pm 0,5$  g, cujos resultados foram calculados com base na massa úmida e expressos em porcentagem.

Para determinação da curva de embebição, utilizou-se sementes intactas e despontadas, com duas repetições de 50 sementes cada, as quais foram pesadas em balança analítica digital (0,001 g) antes da embebição e após cada intervalo de tempo pré-determinado, até emissão da radícula em no mínimo 50% das sementes. A embebição foi realizada pelo método de imersão em água, com as sementes dispostas em béquer com 100 mL de água destilada e mantidos em câmaras de germinação do tipo B. O. D (*Biochemical Oxygen Demand*), a 25 °C. Inicialmente, os intervalos de pesagem foram a cada hora até as oito horas de embebição; em seguida, pesou-se a cada duas horas por dezesseis horas de embebição; a cada quatro horas até quarenta horas de embebição; por último, as pesagens foram feitas a cada oito horas até oitenta e oito horas de embebição, quando houve a protrusão da radícula de 50% das sementes em cada repetição.

Durante a embebição das sementes, o ganho de peso foi calculado de acordo com a fórmula proposta por Cromarty; Ellis; Roberts (1985): % Ganho de peso =  $((Pf - Pi)/Pi) \times 100$ . Em que: Pf: peso final (ganho de umidade a cada período de embebição) e Pi: peso inicial das sementes antes da embebição.

### 2.3.3 Germinação e emergência

Previamente, com o uso de alicate realizou-se o desponte nas sementes, na região oposta à micrópila. Posteriormente, a semeadura foi realizada em substrato rolo de papel toalha (Germitest<sup>®</sup>) previamente esterilizado em estufa a 105 °C durante duas horas e, posteriormente, umedecidos com água destilada na quantidade de 2,5 vezes o peso do substrato seco (BRASIL, 2009). Em seguida, foram semeadas quatro repetições de vinte e cinco sementes, que foram incubadas em câmara do tipo B. O. D a 30 °C com regime de luz de 8 horas. A contagem de plântulas normais foi feita aos 10 dias após a instalação do teste, quando ocorreu a estabilização do estande (BENEDITO et al., 2019).

A semeadura para avaliação da emergência foi realizada em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, tendo como substrato a fibra de coco umedecida na capacidade de campo. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação telada, com 50% de sombreamento e a irrigação realizada uma vez ao dia durante 14 dias, quando houve a estabilização da emergência de plântulas, consideradas emergidas quando os cotilédones foram expostos (FARIAS et al., 2013).

Os índices de velocidade de germinação e emergência foram contabilizados em conjunto com o teste de germinação e emergência, cujos resultados foram calculados de

acordo com a fórmula apresentada por Maguire (1962):  $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$ , onde: IVG= índice de velocidade de germinação; G1, G2 e Gn = número de plântulas normais, computadas na primeira, segunda e última contagem; N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem.

Os tempos médios de germinação e emergência foram obtidos a partir da fórmula proposta por Labouriau (1983) por meio de contagens diárias das sementes germinadas, sendo os resultados expressos em dias.  $\bar{T} = \sum ni ti / \sum ni$ , onde  $\bar{T}$ =média ponderada;  $t_i$ = tempo de germinação;  $n_i$ = número de sementes germinadas no tempo  $t_i$ .

## 2.4 Teste de tetrazólio

### 2.4.1 Estudos preliminares para adequação ao teste de tetrazólio

Para facilitar a difusão do sal de tetrazólio nos tecidos das sementes, testes preliminares foram conduzidos de acordo com a Tabela 1. Logo, testou-se o período de pré-umedecimento para adequar o tempo de hidratação das sementes com base nas informações obtidas na curva de embebição; a remoção ou não do tegumento, uma vez que este pode impedir a penetração do sal nos tecidos; o corte longitudinal, para avaliação da coloração dos tecidos, assim como a concentração da solução e período de imersão no sal adequado, de forma a colorir os tecidos vivos. Desta forma, primeiramente as sementes com desponte e intactas foram umedecidas em 50 mL de água destilada em câmara do tipo B. O. D a 25 °C e, em seguida, imersas no sal de tetrazólio. Para isto, utilizaram-se quatro repetições de 10 sementes.

**Tabela 1.** Pré-condicionamento de sementes *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke para aplicação do teste de tetrazólio (IA = Imersão em água; CT = Com tegumento; ST = Sem tegumento; CL = corte longitudinal).

Pré- umedecimento		Preparação para coloração	Cor		Método de preparação para avaliação
Tipo	Tempo (h)		Solução (%)	Tempo (h)	
IA	8	CT / ST	0,05; 0,075 e 0,1	2 e 4	CL

Antes de serem imersas na solução de tetrazólio, as sementes foram despontadas na região oposta à micrópila, para facilitar a absorção de água e remoção do tegumento, e umedecidas por 8 horas a 25 °C, com base na curva de embebição. Após esse período, o tegumento foi removido e as sementes foram imersas na solução do sal de tetrazólio para as

respectivas concentrações e períodos descrito na tabela 1, a 35 °C. Ao término do período de coloração, as sementes foram lavadas em água corrente, seccionadas longitudinalmente através do centro do eixo embrionário e avaliadas apenas quanto à uniformidade e à intensidade da coloração apresentadas pelos tecidos.

#### 2.4.2 Determinação da viabilidade e vigor das sementes com base no teste de tetrazólio

Com base nos testes preliminares (Etapa I), as sementes foram despontadas e, em seguida, imersas em água destilada durante 8 horas na temperatura de 25 °C em B. O. D.; após este período, retirou-se o tegumento das sementes para facilitar a coloração mais uniforme dos tecidos. Logo depois, as sementes foram submetidas aos tratamentos compostos pela combinação de diferentes concentrações da solução de tetrazólio e períodos de imersão no sal (0,050%/ 2h; 0,050%/4h; 0,050%/6h, 0,075%/2h; 0,075%/ 4h; 0,075%/ 6h; 0,1%/ 2h; 0,1%/ 4h; 0,1%/ 6h) em três sublotes, totalizando 27 tratamentos com quatro repetições de 25 sementes. Estas foram avaliadas separadamente a 35 e 40 °C em ausência de luz.

Após cada período de coloração, a solução de tetrazólio foi drenada e as sementes lavadas em água corrente, seccionadas longitudinalmente no centro do eixo embrionário e avaliadas individualmente quanto à uniformidade e à intensidade de coloração apresentadas pelos tecidos. Com isto, foi possível classificar as sementes em quatro níveis de vigor (Tabela 1) de acordo com a adaptação do trabalho realizado por Masullo et al. (2017) com sementes em espécies florestais.

**Tabela 2.** Descrição da coloração e características das sementes (Embrião, cotilédones e região vascular) de *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke para cada categoria e níveis de vigor.

CATEGORIAS	CLASSES	DESCRIÇÃO
Viáveis e vigorosas	Classe I	Coloração em tonalidades róseas uniforme; tecidos túrgidos; presença de tecido morto ou em deterioração na região periférica dos cotilédones ou próximas ao eixo embrionário; danos superficiais não afetando a região interna do cotilédone.
Viáveis e não vigorosas	Classe II	Presença de tecido morto ou em deterioração na região oposta ao eixo embrionário, podendo apresentar-se na região interna e externa da região periférica do cotilédone; na região mediana do cotilédone, afetando interna e externamente os dois lados; na região do eixo embrionário externa e internamente, não afetando o cilindro central ou afetando em menor extensão (menor que metade de sua espessura); na extremidade da radícula, sem afetar o cilindro central; próximos a região da plúmula, sem afetá-la; fratura do cotilédone, tecido morto ou deteriorado numa extensão menor que a metade da área total dos cotilédones ou de um dos cotilédones, deixando apenas o eixo embrionário intacto; fratura na região próxima ao ponto de ligação dos cotilédones com o embrião, mas deixando a região vascular intacta; eixo embrionário encontra-se bem definido.
Inviáveis	Classe III	Presença de tecido morto ou em deterioração em ambos os cotilédones bloqueando a região vascular no eixo embrionário, atingindo o cilindro central no ponto de ligação de ambos os cotilédones, atingindo a região vascular; tecidos mortos ou em deterioração em extensão maior que a metade da superfície total dos cotilédones; fratura dos cotilédones com área maior que o a superfície da semente; plúmula em deterioração.
Mortas	Classe IV	Apresenta coloração esbranquiçada ou esverdeada, às vezes com tonalidades róseo escuro mesclado.

## 2.5 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3x9, sendo três sublotes e nove combinações, totalizando vinte e sete tratamentos, com quatro repetições de 25 sementes, para as temperaturas de 35 e 40 °C, isoladamente.

## 2.6 Análise estatística

Os resultados da viabilidade e vigor foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F ao nível de 5% de significância. Em caso de significância, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo o *software* Sisvar (FERREIRA, 2011).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Caracterização da qualidade inicial dos sublotos de sementes

Com relação à análise da qualidade inicial dos sublotos, verifica-se que não houve efeito significativo em todas as variáveis avaliadas. O tamanho das sementes não afetou a sua qualidade fisiológica e não permitiu estratificar os três sublotos analisados (Tabela 3). Isto ocorreu porque a diferença do tamanho das sementes foi de apenas 1 mm de diâmetro, insuficiente para classificar as sementes em grandes, médias e pequenas. Além disso, não há limites específicos, em função da diversidade de espécies, diferenças genéticas dentro da própria espécie, além das condições edafoclimáticas que afetam o fenótipo, que limite com segurança o tamanho das sementes em grandes, médias e pequenas.

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância para as variáveis grau de umidade (GU), germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e tempo médio de emergência (TME) de sublotos de sementes *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke.

Fontes de variação	Análise da variância						
	GL	Quadrados médios					
		G (%)	IVG	TMG	E (%)	IVE	TME
Sublotos	2	33,33 <sup>n. s.*</sup>	6,62 <sup>n. s.</sup>	0,25 <sup>n. s.</sup>	64,0 <sup>n. s.</sup>	0,18 <sup>n. s.</sup>	0,07 <sup>n. s.</sup>
Erro	9	34,67	2,19	0,19	21,78	0,08	0,09
Média		72,67	15,05	1,75	69,0	4,13	4,42
CV (%)		8,10	9,83	25,20	6,76	6,82	6,69

\*n. s. – não significativo

Por outro lado, o tamanho da semente é um fator que vem sendo utilizado na avaliação da qualidade fisiológica para muitas espécies, caracterizada pela viabilidade e vigor, pois pode influenciar diretamente no desempenho do lote (PÁDUA et al., 2010). A classificação das sementes por tamanho ou massa é uma estratégia que pode ser adotada para uniformizar a emergência das plântulas e para a obtenção de mudas de tamanho semelhante ou de maior vigor (SILVA et al. 2010). Isso é possível na medida em que sementes mais pesadas, por apresentar maior quantidade de reserva nutricional, geralmente apresentam melhor desempenho se comparadas às leves (SOUZA et al., 2017).

Estudos demonstram que o tamanho das sementes influencia nos resultados da qualidade fisiológica do lote de sementes e, para sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, os melhores resultados de emergência e índice de velocidade de germinação foram obtidos para sementes de tamanho grande (SOUZA et al., 2017). Para sementes de

*Fimbristylis dichotoma* Vahl (Kranz), os melhores resultados foram obtidos para sementes classificadas como médias (MENDONÇA et al, 2015), e para sementes de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake o tamanho não influenciou a germinação das sementes e no desenvolvimento das plântulas (FREIRE et al., 2015).

A obtenção de resultados da qualidade inicial das sementes é importante para a condução do teste de tetrazólio. Dessa forma, busca-se obter respostas complementares às fornecidas pelo teste de germinação e/ou emergência, o que possibilita a obtenção de informações consistentes (OHLSON et al., 2010) que irão auxiliar na escolha do melhor tratamento a ser utilizado. Além disso, identificar os lotes de sementes com maior e menor potencial fisiológico é de suma importância e, dessa forma, verificar a confiabilidade do teste de tetrazólio para este fim (DEMINICIS; VIEIRA; SILVA., 2009).

### 3.2 Estudos preliminares para adequação do teste de tetrazólio em sementes de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke

As sementes apresentaram teor de água inicial médio de 8,7% e, após oito horas de embebição, as sementes com desponte atingiram cerca de 64,0% de umidade, diferentemente das sementes intactas, que alcançaram 15,75% de umidade (Figura 1).

100 ■ P  
■ P

**Figura 1.** Curva de embebição de sementes de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke a 25 °C, imersas em água destilada. PR = protrusão da radícula; 50% PR = protrusão da radícula em 50% das sementes.

A partir desse período de oito horas, o ganho de água manteve-se constante para as

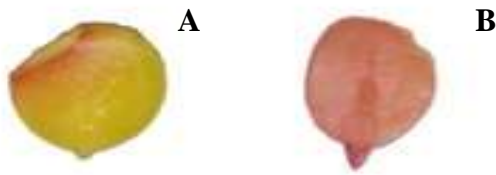


sementes com desponete. A protrusão da radícula teve início após trinta e seis horas de embebição, com 69,7% de água e a curva de embebição foi finalizada após oitenta e oito horas, quando cerca de 50% das sementes emitiram radícula. Por sua vez, as sementes intactas mantiveram ganho de água crescente e atingiram cerca de 50,7% de água ao final da curva. Esses resultados evidenciam que a espécie apresenta padrão trifásico apenas quando submetida ao tratamento pré-germinativo, com destaque para a fase I, caracterizada pela rápida absorção de água e aumento da taxa respiratória, e a fase II, pela ativação do metabolismo das sementes e o transporte ativo de substâncias para o prosseguimento do crescimento do embrionário (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Apesar da fase III ser caracterizada pela retomada de absorção de água, para a *P. stipulacea* esse ganho de água não foi observado; por outro lado, ocorreu emissão da raiz primária (MARCOS-FILHO, 2015), que também é atribuída a esta fase.

Resultado semelhante foi verificado para sementes de *Simira gardneriana* M.R. Barbosa & Peixoto (OLIVEIRA et al., 2016) e *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea* (CARVALHO et al., 2017), nos quais, na fase III, não ocorreu a retomada do ganho de água. Além disso, para *S. gardneriana* são necessárias 144 horas de hidratação para o amolecimento e coloração adequada dos tecidos das sementes, apesar de não possuir dormência (AOSA, 2009), ao passo que para *L. ferrea* esse período é menor, sendo necessárias apenas 42 horas após escarificação, mesmo a semente apresentando dormência tegumentar (CARVALHO et al., 2017).

Essa diferença no ganho de água está relacionada à impermeabilidade do tegumento, que difere entre as espécies, pois se trata de característica herdável, controlada por poucos genes, influenciada pelo ambiente e, principalmente, pela umidade, temperatura do ar e pela associação de microrganismos durante o processo de maturação fisiológica (MARCOS-FILHO, 2015).

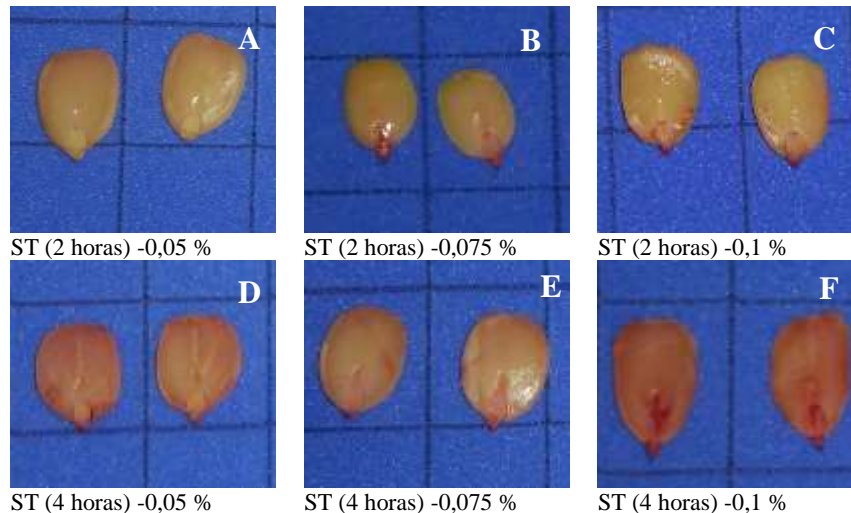
Para *P. stipulacea*, o tempo de 8 horas se mostrou eficiente para hidratar adequadamente os tecidos das sementes quando despontadas e, com posterior remoção do tegumento e imersão no sal de tetrazólio na concentração de 0,075% por quatro horas foi possível colorir os tecidos, possibilitando a diferenciação dos tecidos vivos (Figura 2B). Por outro lado, quando as sementes foram imersas com tegumento na solução de sal de tetrazólio, não coloriram, impossibilitando a distinção de sementes viáveis das não viáveis, principal objetivo desse teste (BRASIL, 2009) (Figura 2A).



**Figura 2.** Sementes de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke embebidas por 8 horas em água a 25 °C, imersas na solução por 4 horas na concentração de 0,075% a 35 °C com tegumento (A) e sem tegumento (B) com desponte na região oposta à micrópila.

A remoção do tegumento é indicada para algumas espécies com tegumento impermeável, uma vez que facilita a absorção do sal de tetrazólio e a coloração dos tecidos, como em sementes de *Cassia Grandis* L.F. (SANTOS et al., 2016); *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz (SOUSA et al., 2017); *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea* (CARVALHO et al., 2017). Além da remoção do tegumento, a eficiência do teste em avaliar a viabilidade e o vigor das sementes depende da seleção adequada da concentração de tetrazólio, bem como o período de tempo em que as sementes serão incubadas na solução, etapas decisivas na obtenção de resultados precisos (CERVI; MENDONÇA, 2009).

Dessa forma, a partir dos resultados dos testes preliminares, verificou-se que as concentrações de 0,05, 0,075 e 0,1% por 2 e 4 horas foram eficientes na distinção dos tecidos vivos, a 35 °C. O menor período testado proporcionou leve coloração dos tecidos em todas as concentrações testadas. Quando as sementes foram incubadas por quatro horas, uma tonalidade rósea foi obtida, o que facilitou a distinção entre sementes viáveis e inviáveis (Figura 3).



**Figura 3.** Sementes de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke embebidas por 8 horas a 25 °C, imersas na solução por 2 e 4 horas nas concentrações de 0,05% (A, D), 0,075% (B, E) e 0,1% (C, F) a 35 °C sem tegumento (ST) e corte na região oposta à micrópila.

Este resultado demonstra a importância da realização da curva de embebição, uma vez que a partir dos resultados obtidos é possível definir o melhor período de umedecimento, que deve ocorrer no mínimo no início da fase II, quando a atividade respiratória ocorre mais intensamente e antes que as sementes alcancem a fase III (LAMARCA; LEDUC; BARBEDO, 2009).

### 3.3 Teste de tetrazólio

Entre as combinações de tratamentos e os sublotos, constatou-se interação significativa para a viabilidade das sementes ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ), para as temperaturas de 35 e 40 °C (Tabela 4).

**Tabela 4.** Resumo da análise de variância da viabilidade dos sublotos de sementes de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke submetidos a diferentes combinações de tetrazólio, nas temperaturas de 35 e 40 °C.

Fontes de variação	GL	Quadrado médio	
		35 °C	40 °C
Sub-lotes (S)	2	665,04**	1957,33**
Combinações (C)	8	258,59**	274,0**
S x C	16	284,37**	147,83**
Erro	78	17,11	19,35
Média		68,74	68,0
CV (%)		6,02	6,47

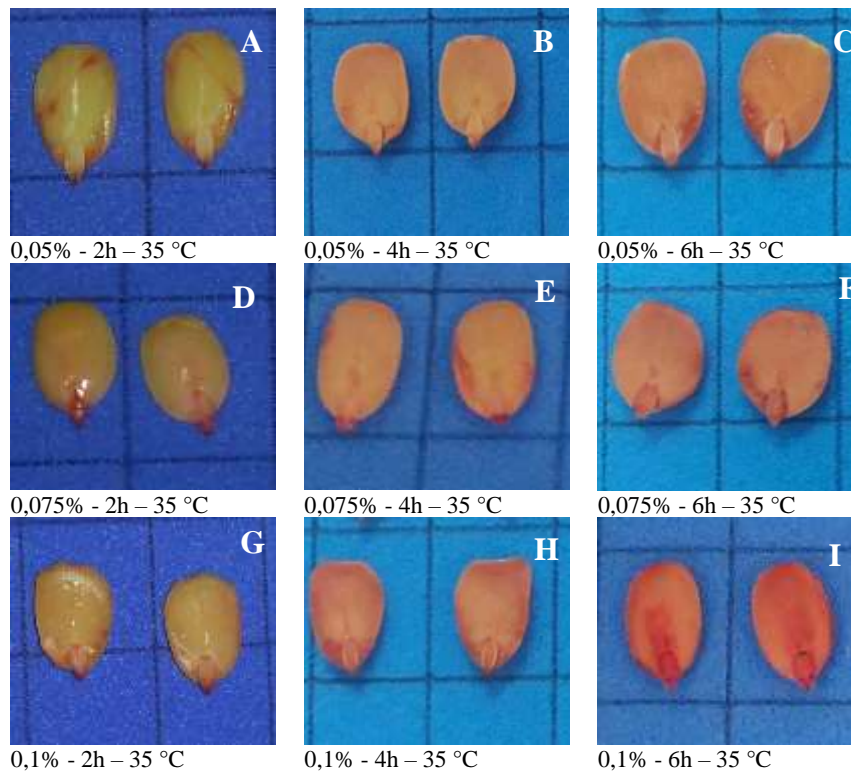
\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* Significativo ao nível de 5% de probabilidade; n.s – Não significativo.

Para a viabilidade das sementes a 35 °C, o subote 1 apresentou, nas concentrações 0,05%/ 4 e 6 horas e 0,1%/ 6h, resultados elevados de viabilidade e superiores aos resultados obtidos nos subotes 2 e 3 (Tabela 5). Para este subote, verifica-se superestimação dos resultados, com valores acima dos obtidos na qualidade inicial através do teste de germinação e emergência. Para o subote 2, os melhores resultados foram oriundos das concentrações 0,075%/ 6h e 0,1%/ 2h. Para o subote 3, os menores resultados foram obtidos na menor concentração e período de coloração (0,05%/ 2h) e na maior concentração, 0,1%/ 4 horas (Tabela 5). Além do mais, o padrão de coloração das sementes variou de acordo com a concentração da solução e tempo de incubação, sendo que os tecidos com tons mais claros foram observados no menor período de coloração e coloração rosa claro brilhante para as concentrações 0,075 e 0,1% (Figura 4).

**Tabela 5.** Porcentagem de sementes viáveis de três subotes de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke, submetidas a diferentes combinações entre períodos e concentrações de sal de tetrazólio a 35 e 40 °C.

Combinações (solução de tetrazólio x período de coloração)	Subotes		
	1	2	3
35 °C			
C1 (0,05%/ 2h)	63 bC	72 aB	45 cC
C2 (0,05%/ 4h)	80 aA	73 bB	64 cA
C3 (0,05%/ 6h)	80 aA	65 bC	68 bA
C4 (0,075%/ 2h)	61 aC	65 aC	68 aA
C5 (0,075%/ 4h)	75 aB	70 aB	71 aA
C6 (0,075%/ 6h)	77 aB	78 aA	67 bA
C7 (0,1%/ 2h)	51 cD	81 aA	65 bA
C8 (0,1%/ 4h)	72 aC	71 aB	58 bB
C9 (0,1%/ 6h)	82 aA	66 bC	68 bA
40 °C			
C1 (0,05%/ 2h)	75 aB	70 bA	67 bB
C2 (0,05%/ 4h)	81 aA	67 bA	62 bB
C3 (0,05%/ 6h)	80 aA	66 bA	75 aA
C4 (0,075%/ 2h)	72 aB	59 bB	67 aB
C5 (0,075%/ 4h)	73 bB	70 bA	78 aA
C6 (0,075%/ 6h)	71 aB	57 bB	75 aA
C7 (0,1%/ 2h)	72 aB	56 cB	64 bB
C8 (0,1%/ 4h)	82 aA	56 cB	65 bB
C9 (0,1%/ 6h)	68 aB	41 bC	67 aB
Germinação (%)	71	71	76
Emergência (%)	69	73	65

\*Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.



**Figura 4.** Padrão de coloração das sementes viáveis e vigorosas de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke para as combinações (0,05%/2, 4 e 6 horas - A, B e C); (0,075%/2, 4 e 6 horas - D, E e F) e (0,1%/ 2, 4 e 6 horas - G, H e I), a 35 °C.

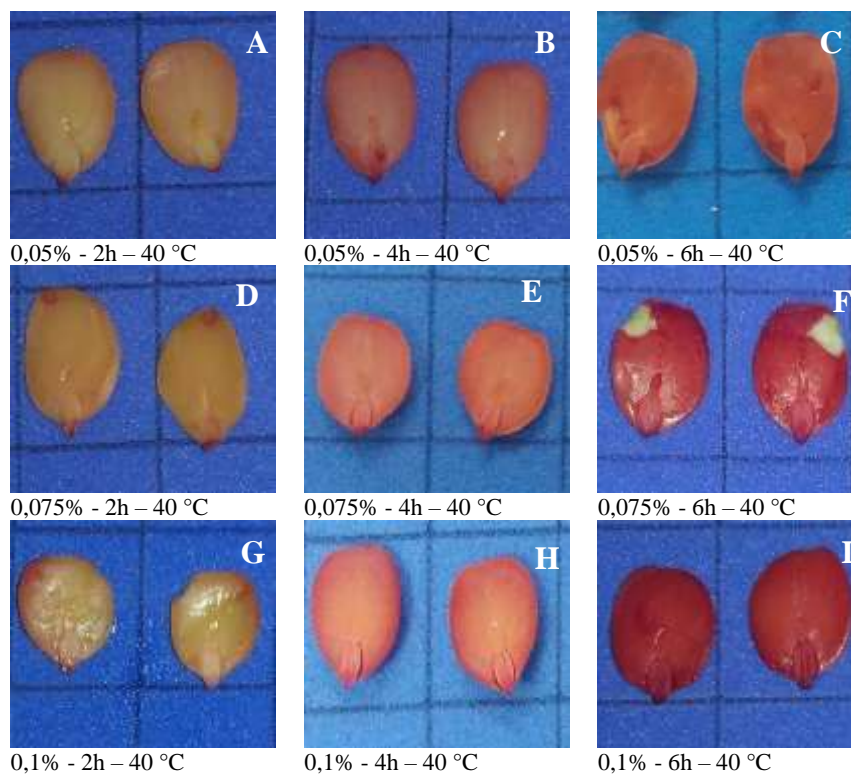
Apesar de estes resultados serem satisfatórios, não ranquearam os sublotes de acordo com a qualidade inicial, que indica não haver diferença estatística entre os tamanhos das sementes. Somente a concentração 0,075%/ 2 e 4 horas faz esse ranqueamento e a segunda combinação (0,075%/ 4h) fornece resultados semelhantes à germinação, com margem de 5% de diferença (Tabela 5).

Estes resultados corroboram com Pinho et al. (2011) e reiteram que os resultados da viabilidade pelo teste de tetrazólio devem ser próximos aos do teste de germinação, com margem de 5% de diferença entre eles. Além disso, a coloração dos tecidos deve proporcionar melhores resultados para análise da viabilidade de sementes. Essa combinação (0,075%/ 4 h) já é indicada para sementes de *P. moniliformis* (AZEREDO; PAULA; VALERI, 2011). Para outras espécies, a concentração de 0,075% também é utilizada como para *Erythrina velutina* Willd por três horas (CUNHA; GOMES, 2015) e *P. pyramidalis* por 90 minutos (SOUSA et al., 2017).

Em contrapartida, este teste difere de espécie para espécie de acordo com suas características e para sementes de *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S.Irwin & Barneby a melhor combinação é de 0,1%/ 3 horas (PIVETA et al., 2018). A concentração de 0,05%/ 3

horas é eficiente para avaliar a viabilidade de sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith (GUEDES et al., 2010) e de *L. ferrea* (CARVALHO et al., 2017). Dessa forma, o período, a temperatura e a concentração da solução de tetrazólio devem ser determinados a partir de estudos que comparem seus resultados com outros testes que avaliam a viabilidade de sementes, como a germinação e a emergência de plântulas (GARLET; SOUZA; DELAZERI, 2015).

Resultados semelhantes foram obtidos ao utilizar a temperatura de 40 °C. Nesta temperatura, a concentração 0,075%/ 4 horas resultou em porcentagem de sementes viáveis semelhante à germinação e emergência nos três sublotes (Tabela 5) e proporcionaram coloração considerada adequada para a correta avaliação dos tecidos, permitindo visualizar nitidamente, o eixo embrionário, cilindro central e plúmula (Figura 5E).



**Figura 5.** Padrão de coloração das sementes viáveis e vigorosas de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke para as combinações (0,05%/2, 4 e 6 horas - A, B e C); (0,075%/2, 4 e 6 horas - D, E e F) e (0,1%/ 2, 4 e 6 horas - G, H e I), a 40 °C.

A menor concentração (0,05%) associada aos períodos de 4 e 6 horas e a maior concentração (0,1%) por 4 horas proporcionou incrementos nas estimativas de viabilidade das sementes principalmente para o subote 1, que apresenta resultados superiores. Todavia, a combinação 0,1%/ 6 horas propiciou baixa porcentagem de sementes viáveis, principalmente

para o sublote 2, e esse resultado está relacionado ao padrão de coloração vermelho carmim forte, que dificultou a distinção de sementes viáveis, daquelas em deterioração (Figura 5I). Estes resultados demonstram que para avaliar as sementes no menor e maior período de incubação e, na maior concentração, exige maior cuidado, conhecimento e experiência por parte do analista, na diferenciação os tecidos viáveis.

Independentemente da temperatura utilizada, a concentração 0,075%/ 4 horas apresentou resultados satisfatórios quanto à porcentagem de sementes viáveis e, nesta condição, foi possível distinguir sementes viáveis com maior qualidade (Figuras 5E). Isto ocorre porque a análise das sementes depende do padrão de coloração dos tecidos e está relacionada à concentração da solução de tetrazólio e ao período de incubação utilizado. Dessa forma, compreender as diferentes tonalidades observadas nas sementes após a incubação na solução de tetrazólio é a principal característica que deve ser considerada na interpretação dos resultados do teste (GASPAR-OLIVEIRA; MARTINS; NAKAGAWA, 2009).

Além de contribuir para detectar a viabilidade das sementes que apresentam dormência, o teste de tetrazólio é eficiente para detectar o vigor, assim como distingue danos, auxiliando no controle da qualidade das sementes (PIVETA et al., 2018), sendo utilizado como teste de vigor complementar quando as sementes são submetidas a diferentes condições de armazenamento (GARCIA et al., 2014; ABBADE, TAKAKI, 2014; VICENTE et., 2016); após envelhecimento acelerado (PEREIRA et al., 2017); para avaliar lotes de diferentes procedências (NORONHA et al., 2018) e após métodos de superação de dormência (PIVETA et al., 2018), o que enfatiza a importância de procedimentos adequados para a condução do teste.

Dessa forma, os resultados em relação às classes de vigor são apresentados na tabela 6 e verificou-se interação significativa entre as combinações (concentrações e períodos de coloração no sal de tetrazólio) e os três sublotes, para as temperaturas de 35 e 40 °C. Em todos os tratamentos, foi possível estabelecer as quatro classes propostas previamente para melhor avaliação da qualidade fisiológica das sementes.

**Tabela 6.** Resumo da análise de variância para diferentes classes de vigor de sublotos de sementes de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke submetidas a diferentes combinações (concentrações e períodos no sal de tetrazólio), a 35 e 40 °C.

35 °C					
Fontes de variação	GL	Classe I	Classe II	Classe III	Classe IV
Sublotos (S)	2	77,48**	395,11**	64,15**	361,93**
Combinação de tratamentos (C)	8	167,26**	275,0**	135,59**	191,37**
S x C	16	284,98**	157,11**	251,31**	102,93**
Erro	78	17,26	11,11	10,34	12,35
Média		47,74	21,0	15,41	15,85
CV (%)		4,42	8,51	11,56	12,12
40 °C					
Sublotos (S)	2	2567,70**	768,59**	765,78**	293,78**
Combinação (C)	8	346,15**	40,15**	192,33**	59,33**
S x C	16	180,04**	109,93**	113,78**	89,28**
Erro	78	25,57	13,08	10,55	10,74
Média		46,63	21,37	16,55	15,44
CV (%)		5,46	8,47	10,34	

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* Significativo ao nível de 5% de probabilidade; n.s – Não significativo.

A maior porcentagem de sementes viáveis e vigorosas (classe I), a 35 °C, foi verificada para as combinações 0,05 e 0,075% por 4 e 6 horas para o sublote 1. Apenas na concentração de 0,075%/ 6 horas, não difere entre os sublotos. Comportamento semelhante foi observado para a combinação 9 (0,1%/ 6 horas), porém a porcentagem de sementes viáveis e vigorosas foi menor. Por sua vez, o sublote 2 necessitou de maior concentração da solução (0,1%) por 2 horas para obter resultados de alta porcentagem de sementes nesta classe, diferentemente do sublote 3, que apresenta resultados semelhantes, exceto para as concentrações de 0,05%/ 2h e 0,1% por 2 e 6 horas, que mostraram resultados inferiores. Nestas combinações, houve maior dificuldade em diferenciar os tecidos das sementes pelo padrão de coloração adotado, principalmente na menor concentração, que não diferiu do sublote 1, que apresenta maior tamanho das sementes (Tabela 7).



**Tabela 7.** Classes de vigor de sementes de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke submetidas a diferentes concentrações de sal de tetrazólio e período de exposição à temperatura de 35 °C

Combinções (solução de tetrazólio x período de coloração)	Classe I – Viáveis e vigorosas		
	Sublotes		
	1	2	3
	35 °C		
C1 (0,05%/ 2h)	38 bC	61 Ab	40 bB
C2 (0,05%/ 4h)	60 aA	51 Bc	50 bA
C3 (0,05%/ 6h)	56 aA	37 Cd	49 bA
C4 (0,075%/ 2h)	38 bC	49 aC	47 aA
C5 (0,075%/ 4h)	55 aA	48 bC	50 bA
C6 (0,075%/ 6h)	52 aA	49 aC	49 aA
C7 (0,1%/ 2h)	40 bC	68 aA	43 bB
C8 (0,1%/ 4h)	46 aB	39 bD	46 aA
C9 (0,1%/ 6h)	42 aB	42 aD	44 aB
	Classe II – Viáveis e não vigorosas		
C1 (0,05%/ 2h)	25 aB	11 bC	5 cC
C2 (0,05%/ 4h)	20 aC	22 aB	14 bB
C3 (0,05%/ 6h)	24 aB	28 aA	19 bA
C4 (0,075%/ 2h)	23 aB	16 bC	21 aA
C5 (0,075%/ 4h)	20 aC	22 aB	21 aA
C6 (0,075%/ 6h)	25 aB	29 aA	18 bA
C7 (0,1%/ 2h)	11 bD	13 bC	22 aA
C8 (0,1%/ 4h)	26 bB	32 aA	12 cB
C9 (0,1%/ 6h)	40 aA	24 bB	24 bA
	Classe III – Inviáveis		
C1 (0,05%/ 2h)	16 aB	13 aB	19 aA
C2 (0,05%/ 4h)	7 bD	8 bC	14 aB
C3 (0,05%/ 6h)	5 bD	21 aA	23 aA
C4 (0,075%/ 2h)	32 aA	17 bA	14 bB
C5 (0,075%/ 4h)	16 aB	14 aB	15 aB
C6 (0,075%/ 6h)	12 aC	9 bC	15 aB
C7 (0,1%/ 2h)	34 aA	9 bC	12 bB
C8 (0,1%/ 4h)	11 aC	14 aB	16 aB
C9 (0,1%/ 6h)	5 bD	22 aA	23 aA
	Classe IV – Mortas		
C1 (0,05%/ 2h)	21 bA	15 cA	36 aA
C2 (0,05%/ 4h)	13 bC	19 aA	22 aB
C3 (0,05%/ 6h)	15 aB	14 aB	9 bD
C4 (0,075%/ 2h)	7 bC	18 aA	18 aC
C5 (0,075%/ 4h)	9 bC	16 aA	14 aC
C6 (0,075%/ 6h)	11 bC	13 bB	18 aC
C7 (0,1%/ 2h)	15 bB	10 bB	23 aB
C8 (0,1%/ 4h)	17 bB	15 bA	26 aB
C9 (0,1%/ 6h)	13 aC	12 aB	9 aD

\*Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Em contrapartida, a concentração 0,1%/ 6h a 35 °C apresenta maior porcentagem de sementes viáveis e não vigorosas (classe II) para o sublote 1, que difere estatisticamente dos sublotes 2 e 3. As concentrações 0,05% e 0,075% por 6 horas apresentam resultados

superiores para o subote 2 e não diferem do subote 1. Por sua vez, a menor concentração (0,05%) por duas horas mostram resultados inferiores de sementes viáveis e não vigorosas para os subotes 2 e 3 (Tabela 7).

Ainda a 35 °C é possível identificar baixa porcentagem de sementes inviáveis para o subote 1 para as concentrações 0,05% por 4 e 6 horas e 0,1%/ 6 horas. Este resultado justifica-se pela alta porcentagem de sementes classificadas nas classes anteriores. Em contrapartida, estas combinações proporcionaram maiores médias de sementes inviáveis para os subotes 2 e 3.

Em relação à porcentagem de sementes mortas a 35 °C, a combinação 1 (0,05%/ 2h) resultou em maior porcentagem de sementes mortas para o subotes 1, no entanto esta combinação demonstrou resultado superior para o subote 3, com 36% (Tabela 7). Em outras palavras, as sementes menores, na menor concentração e menor período de coloração, tiveram coloração fraca que dificultou a distinção de sementes vivas, viáveis e vigorosas daquelas sem coloração (mortas).

Dependo da espécie em estudo, o teste de tetrazólio vem demonstrando eficiência no uso de concentrações mais baixas e isso pode ser visto em trabalhos como de Lamarca; Leduc; Barbedo (2009) para sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.); em trabalho de Guedes et al. (2010) com amburana *A. cearensis*; Abbade e Takaki (2014) com ipê branco (*Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith) e Carvalho et al. (2017) com jucá (*L. ferrea*). Para essas espécies, a concentração 0,05% permitiu o desenvolvimento de coloração suave, porém permitiu maior precisão na avaliação, assegurando a identificação de danos no eixo embrionário e cotilédones.

Para a temperatura de 40 °C, verifica-se diferença estatística para a porcentagem de sementes viáveis e vigorosas no subote 1 apenas nas combinações 0,05%/ 2h e 0,1% por 2 e 6 horas. Para o subote 2, o melhor resultado foi obtido para a concentração 0,05% por 2 horas e ao passo que aumentou a concentração e o período de coloração, reduziu a porcentagem de sementes viáveis e vigorosas. Verifica-se para o subote 3 maiores resultados nas concentrações de 0,05 e 0,075%/ 4 e 6 horas (Tabela 8).

**Tabela 8.** Classes de vigor de sementes de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke submetidas a diferentes concentrações de sal de tetrazólio e período de exposição à temperatura de 40 °C.

Combinções (solução de tetrazólio x período de coloração)	40 °C		
	Sublotes		
	1	2	3
Classe I – Viáveis e vigorosas			
C1 (0,05%/ 2h)	44 bB	53 aA	43 bB
C2 (0,05%/ 4h)	55 aA	42 bC	56 aA
C3 (0,05%/ 6h)	55 aA	40 bC	62 aA
C4 (0,075%/ 2h)	50 aA	41 bC	50 aB
C5 (0,075%/ 4h)	54 aA	45 bB	61 aA
C6 (0,075%/ 6h)	51 aA	26 bD	56 aA
C7 (0,1%/ 2h)	47 aB	34 bC	51 aB
C8 (0,1%/ 4h)	50 aA	36 bC	50 aB
C9 (0,1%/ 6h)	45 aB	16 bE	46 aB
Classe II - Viáveis e não vigorosas			
C1 (0,05%/ 2h)	31 aA	17 cC	24 bA
C2 (0,05%/ 4h)	26 aB	25 aB	6 bD
C3 (0,05%/ 6h)	25 aB	26 aB	13 bC
C4 (0,075%/ 2h)	22 aC	18 aC	17 aB
C5 (0,075%/ 4h)	19 bC	25 aB	17 bB
C6 (0,075%/ 6h)	20 bC	31 aA	19 bB
C7 (0,1%/ 2h)	25 aB	22 aC	14 bC
C8 (0,1%/ 4h)	32 aA	20 bC	15 bC
C9 (0,1%/ 6h)	23 aB	25 aB	20 aB
Classe III – Inviáveis			
C1 (0,05%/ 2h)	12 aA	15 aB	15 aB
C2 (0,05%/ 4h)	5 bB	17 aB	17 aA
C3 (0,05%/ 6h)	13 aA	17 aB	14 aB
C4 (0,075%/ 2h)	12 bA	19 aB	17 aA
C5 (0,075%/ 4h)	11 bA	17 aB	13 bB
C6 (0,075%/ 6h)	15 aA	17 aB	18 aA
C7 (0,1%/ 2h)	14 bA	21 aB	17 bA
C8 (0,1%/ 4h)	11 bA	21 aB	20 aA
C9 (0,1%/ 6h)	14 cA	46 aA	19 bA
Classe IV – Mortas			
C1 (0,05%/ 2h)	13 aA	15 aB	18 aA
C2 (0,05%/ 4h)	14 bA	16 bB	21 aA
C3 (0,05%/ 6h)	7 bB	17 aB	11 bB
C4 (0,075%/ 2h)	16 bA	22 aA	16 bA
C5 (0,075%/ 4h)	16 aA	13 aB	9 bB
C6 (0,075%/ 6h)	14 bA	26 aA	7 cB
C7 (0,1%/ 2h)	14 bA	23 aA	18 bA
C8 (0,1%/ 4h)	7 cB	23 aA	15 bA
C9 (0,1%/ 6h)	18 aA	13 aB	15 aA

\*Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Para a classe II a 40 °C, os resultados demonstraram alta porcentagem de sementes viáveis e vigorosas para o subplote 1 nas concentrações 0,05%/ 2h e 0,1%/ 4h, que diferem estatisticamente dos sublotes 2 e 3. A combinação 6 (0,075%/ 6h) apresentou maior

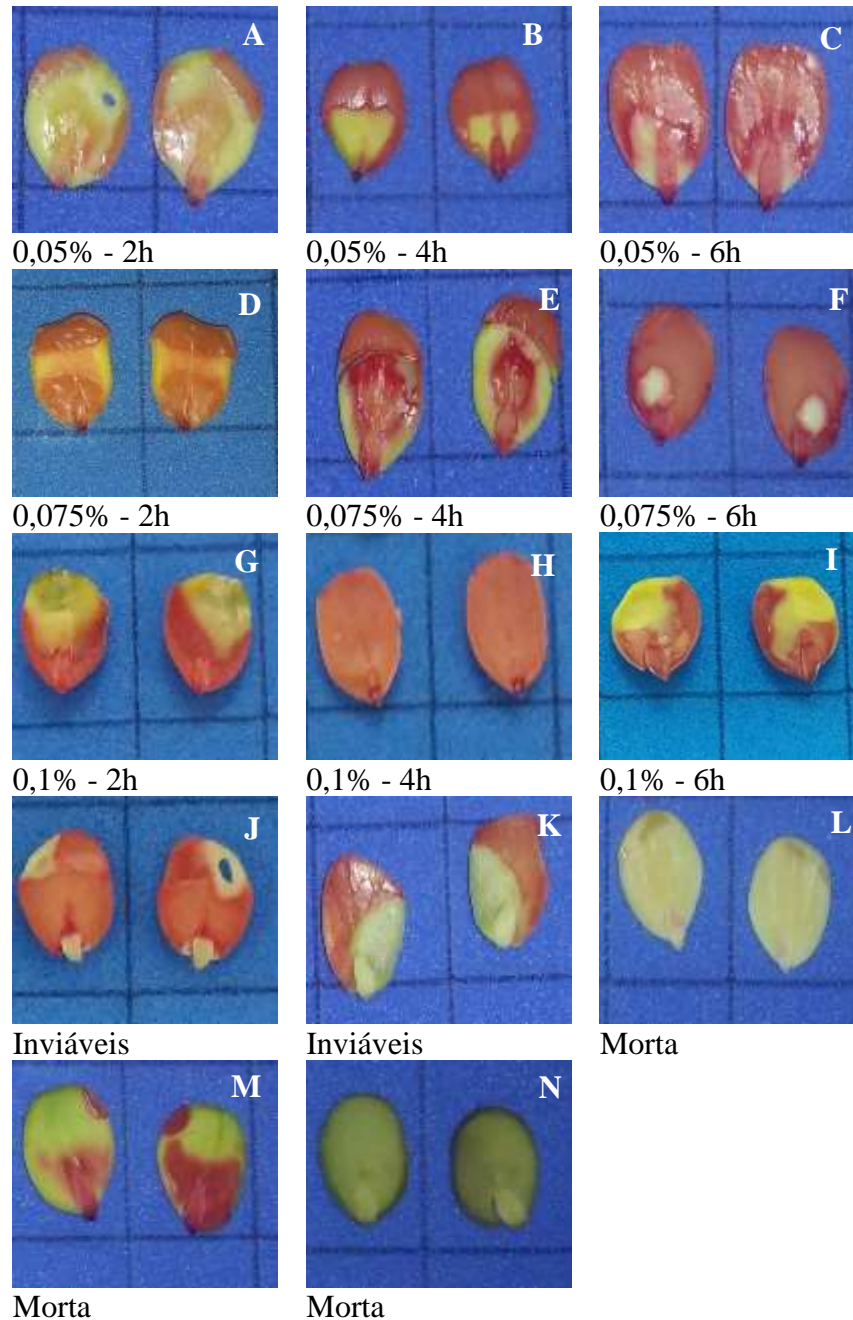
porcentagem de sementes viáveis e não vigorosas para o sub lote 2, superior ao obtido para os demais sub lotes. Para o sub lote 3, a menor combinação (0,05%/ 2h) demonstrou melhor resultado, mas com apenas 24% de sementes viáveis e vigorosas (Tabela 8).

Em compensação, para a classe III a 40 °C os menores resultados de semente inviáveis foram obtidos para o sub lote 1, na concentração de 0,05% por 4 horas. Para esta combinação, os resultados demonstram alta porcentagem de sementes viáveis e vigorosas, acima de 50%, o que explica a redução de sementes inviáveis. Para o sub lote 3, os menores resultados são apresentados nas concentrações 0,05%/ 2 e 6 horas e na concentração de 0,075%/ 4 horas (Tabela 8).

Por outro lado, a maior combinação (0,1%/ 6h) demonstrou resultado elevado, em torno de 46% de sementes classificadas como inviáveis para o sub lote 2 (Tabela 8). Este resultado é divergente dos encontrados para os sub lotes 1 (14%) e 3 (19%). Esta concentração dificultou a interpretação das classes de vigor, devido à formação de coloração vermelho carmim forte em toda a semente e, conseqüentemente, dificultam a avaliação das sementes por não permitirem a fácil diferenciação dos tecidos saudáveis, mortos e em deterioração (CUNHA; GOMES, 2014).

Alta porcentagem de sementes mortas foi identificada na concentração 0,075%/ 2 e 6 horas e não difere estatisticamente da concentração de 0,1%/ 2 e 4 horas para o sub lote II, e estes resultados foram superiores aos apresentados nos sub lotes 1 e 3. Nesta classe, as sementes apresentaram tecido sem coloração (Figura 6L) ou coloração mesclada, branco leitosa com vermelho carmim forte (Figura 6M).

Além de identificar tecido morto, o teste de tetrazólio permitiu a visualização das estruturas e danos em todos os tratamentos para duas temperaturas. Na figura 6, é possível identificar danos nas regiões críticas, como: plúmula, região vascular, eixo embrionário e sementes mortas. Além de identificar uma das causas do dano, como, por exemplo, dano causado por inseto com aparelho bucal picador-sugador (Figura 6F), essa identificação possibilita que o produtor descarte ou não o lote de sementes, uma vez que essas áreas são essenciais para o desenvolvimento de plântula normal e garantem o desenvolvimento e qualidade das mudas que serão produzidas.



**Figura 6.** Padrão de coloração das sementes inviáveis e mortas de *Piptadenia stipulacea* Benth. Ducke Para as combinações (0,05%/2, 4 e 6 horas - A, B e C); (0,075%/2, 4 e 6 horas - D, E e F); (0,1%/ 2, 4 e 6 horas - G, H e I); (inviáveis - J, e K) e (sementes mortas - L, M e N).

Para que ocorra a emergência de *P. stipulacea*, são necessários 21 dias e sem tratamento pré-germinativo a porcentagem de sementes viáveis é em torno de 50%. Após a realização do desponte na região oposta à micrópila, o período necessário para que ocorra a germinação são 10 dias com resultados de viabilidade acima de 80% (BENEDITO et al. 2019). Dessa forma, pode-se concluir que o teste de tetrazólio é eficiente para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de *P. stipulacea*, pois possibilita a avaliação da viabilidade

e vigor das sementes em apenas 12 horas, com resultados semelhantes aos obtidos no teste de germinação e emergência.

#### 4 CONCLUSÃO

Para o preparo das sementes de *P. stipulacea*, é indicado o desponte na região oposta à micrópila, seguido de umedecimento direto em água por 8 horas, a 25 °C, com posterior remoção do tegumento antes da imersão no sal de tetrazólio.

Para avaliação da viabilidade e vigor de sementes de *P. stipulacea*, deve-se utilizar a concentração do sal de tetrazólio de 0,075% por quatro horas, a 35 e 40 °C.

## REFERÊNCIAS

- ABBADE, L. C.; TAKAKI, M. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith – Bignoniaceae, submetidas ao armazenamento. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 38, n. 2, p. 233-240, abr./jun. 2014. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010067622014000200003&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010067622014000200003&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 03 de jan. 2019.
- AOSA. Association of Official Seed Analysts. **Seed vigor testing handbook**. Ithaca, 2009. 340p.
- AZEREDO, G. A.; PAULA, R. C.; VALERI, S. V. Viabilidade de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 61-68, jan./ mar. 2011. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010131222011000100007](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010131222011000100007)>. Acesso em: 30 de out. 2018.
- BENEDITO, C. P. et al. Dormancy overcoming and germination test in *Piptadenia stipulaceae* (Benth.) Ducke seeds. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 50, n. 2, p. 338-344, abr./ jun. 2019. Disponível em: <<http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/5627/1811>>. Acesso em: 04 de mar. 2019.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395 p.
- CARVALHO, S. M. C. et al. Viability of *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) seeds by tetrazolium test. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 39, n. 1, p. 007-012, jan./mar. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2317-15372017000100007](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372017000100007)>. Acesso em: 03 abr. 2018.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.
- CERVI, F. MENDONÇA, E. A. F. Adequação do teste de tetrazólio para sementes de algodoeiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 177-186, jan./ mar. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222009000100020&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222009000100020&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 30 de dez. 2018.
- CORTE, V. B.; BORGES, E. E. L.; PEREIRA, B. L. C. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de *Melanoxylon brauna* Shot. **Cerne**, Lavras, v. 16, n. 3, p. 415-421, jul./set. 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010477602010000300018&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010477602010000300018&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 24 de set. 2018.
- COSTA, M. A. et al. Seed quality evaluation by tetrazolium staining of *Parkia multijuga* Benth. **Agricultural Sciences**, Milan, v. 9, n. 5, p. 577-586, may. 2018. Disponível em: <[https://file.scirp.org/Html/5-3002029\\_84979.htm](https://file.scirp.org/Html/5-3002029_84979.htm)>. Acesso em: 14 de nov. 2018.



CROMARTY, A. S.; ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. **Design of seed storage facilities for genetic conservation**. Rome: INTERNACIONAL BOARD OF PLANT GENETIC RESOURCES, 1985. 100 p.

CUNHA, M. C. L.; GOMES, I. H. R. A. Viabilidade de sementes de *Erythrina velutina* Willd pelo teste de tetrazólio. **Nativa**, Sinop, v. 3, n. 3, p. 196-200, jul./set. 2015. Disponível em: <<http://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/nativa/article/view/2304>>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

DEMINICIS, B. B.; VIEIRA, H. D.; SILVA, R. F. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Clitorea ternatea* L. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 54-62, abr./jun. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010131222009000200006&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010131222009000200006&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 31 de dez. 2018.

FARIAS, R. M. et al. Superação de dormência em sementes de jurema-branca (*Piptadenia stipulacea*). **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, v. 56, n. 2, p. 160-165, abr./jun. 2013. Disponível em: <<http://periodicos.ufra.edu.br/index.php/ajaes/article/view/753/308>>. Acesso em: 23 de ago. 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dec. 2011. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-70542011000600001](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542011000600001)>. Acesso em: 07 de set. 2018.

FREIRE, J. M. et al. Intra-and inter-population variation in seed size and dormancy in *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake in the atlantic forest. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 25, n. 4, p. 897-907, out./dez. 2015. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/index.php/cienciaflorestal/article/view/20592>>. Acesso em 31 de dez. 2018.

GARLET, J.; SOUZA, G. F. S.; DELAZERI, P. Teste de tetrazólio de sementes de *Cassia leptophylla*. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 1800-1808, jan./jun. 2015. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2015b/agrarias/teste%20de%20%20tetrazolio.pdf>>. Acesso em: 17 de mar. 2019.

GASPAR-OLIVEIRA, C. M.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Concentração da solução de tetrazólio e período de coloração do teste para sementes de mamoneira. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 38-47, jul./set. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010131222010000100021&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010131222010000100021&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 02 de jan. 2018.

GUEDES, R. S. et al. Metodologia para teste de tetrazólio em sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 120-126, jan./mar. 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-05722010000100017](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722010000100017)>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: SECRETARIA GERAL DA ORGANIZAÇÃO DOS ESTADOS AMERICANOS, 1983. 174 p.

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**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 793-803, out./ dez. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-84042009000400017](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-84042009000400017)>. Acesso em: 23 de ago. 2018.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, mar. 1962. Disponível em: <<https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/2/2/CS0020020176/preview/pdf>>. Acesso em: 02 de fev. 2018.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. Fortaleza: PRINTCOLOR GRÁFICA E EDITORA, 2012, 413 p.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed., Londrina: ABRATES, 2015. 660 p.

MASULLO, L. S.; PINÃ-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; AMÉRICO, C. Optimization of tetrazolium tests to assess the quality of *Platymiscium floribundum*, *Lonchocarpus muehlbergianus* and *Acacia polyphylla* DC. Seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 39, n. 2, p. 189-197, abr./jun. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2317-15372017000200189](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372017000200189)>. Acesso em: 26 jan. 2018.

MENDONÇA, G. S. et al. Aspectos físicos e fisiológicos de sementes de *Fimbristylis dichotoma* relacionados à germinação e dormência. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 46, n. 3, p. 539-545, jul./set. 2015. Disponível em: <<http://www.ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/3236/1153>>. Acesso em: 31 de dez. 2018.

NOGUEIRA, N. W.; TORRES, S. B.; FREITAS, R. M. O. Teste de tetrazólio em sementes de timbaúba. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 6, p. 967-2975, nov./dez. 2014. Disponível em: <[http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/14704/pdf\\_521](http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/14704/pdf_521)>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

NORONHA, F. C. C. et al. Germinação e crescimento inicial de plântulas de espécies de diferentes procedências do gênero *Schizolobium spp.* **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Betim, v. 12, n. 2, p. 1- 9, ago./ dez. 2018. Disponível em: <[http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/4430/pdf\\_835](http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/4430/pdf_835)>. Acesso em: 31 de dez. 2018.

OLIVEIRA, F. N. et al. Viability of *Simira gardneriana* M.R. Barbosa & Peixoto seeds by the tetrazolium test. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 1, p. 007-013, jan./mar. 2016. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2317-15372016000100007](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372016000100007)>. Acesso em: 26 de jan. 2018.

- PÁDUA, G. P. et al. Influência do tamanho da semente na qualidade fisiológica e na produtividade da cultura da soja. **Revista Brasileira de sementes**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 9 - 16, jul./set. 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010131222010000300001&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010131222010000300001&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 28 de dez. 2018.
- PAIVA, E. P. et al. Teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de maxixe. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 48, n. 1, p. 118-124, jan./mar. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S180666902017000100118&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S180666902017000100118&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 27 de fev. 2018.
- PEREIRA, D. S. et al. Physiological in hybrid brachiaria cv. Mulato II after accelerated aging overcome dormancy. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 39, n. 3, p. 000-000, jul./ set. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2317-15372017000300244](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372017000300244)>. Acesso em 31 de dez. 2018.
- PINHO, D. S. et al. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de angico. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 31, n. 67, p. 269-272, jul./set. 2011. Disponível em: <<https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/197>>. Acesso em: 12 de set. 2018.
- PIVETA, G. et al. Qualidade sanitária e fisiológica de *Senna macranthera* (DC ex. Collad.) H. S. Irwin & Barneby quando submetida a métodos de superação de dormência. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 28, n. 2, p. 836-844, abr./ jun. 2018. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1980-50982018000200836&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1980-50982018000200836&script=sci_arttext)>. Acesso em: 31 de dez. 2018.
- SANTOS, H. O. et al. Viability of canafistula (*Cassia grandis* L. F.) seeds by the tetrazolium test. **International Journal of Current Research**, Raipur, v. 8, n. 03, p. 28031-28035, March, 2016. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/310219296\\_Viability\\_of\\_canafistula\\_Cassia\\_grandis\\_Lf\\_seeds\\_by\\_tetrazolium\\_test](https://www.researchgate.net/publication/310219296_Viability_of_canafistula_Cassia_grandis_Lf_seeds_by_tetrazolium_test)>. Acesso em: 14 de nov. 2018.
- SILVA, K. S. et al. Influência do tamanho da semente na germinação e vigor de mudas de jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Revista Verde**, Pombal, v. 5, n. 4, p. 217-221, out./dez. 2010. Disponível em: <<https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/359>>. Acesso em: 28 de dez. 2018.
- SOUSA, D. M. M. et al. Viabilidade e vigor de sementes de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz pelo teste de tetrazólio. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 48, n. 2, p. 381-388, abr./jun. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1806-66902017000200381&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1806-66902017000200381&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 12 de set. 2018.
- SOUZA, A.G. et al. Optimization of germination and initial quality of seedlings of *Prunus persica* tree rootstocks. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 39, n. 2, p. 286-292. Abr./jun. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2317-15372017000200166](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372017000200166)>. Acesso em: 31 de dez. 2018.

VICENTE, D. et al. Viabilidade de sementes de *Ocotea puberula* (Rich.) Ness ao longo do armazenamento. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 23, n. 3, p. 418-426. Jul./ set. 2016.

Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S217980872016000300418&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S217980872016000300418&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 31 de dez. 2018.

VIEIRA, M. G. G. C.; PINHO, E. V. R. V. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 8-1.