TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Cassia grandis* L.f.

Heloisa Oliveira dos Santos[1], Keline Sousa Albuquerque[1], Robério Anastácio Ferreira[2], Renata Silva-Mann[2]

[1]Universidade Federal de Lavras/Departamento de Agricultura, C.P. 3037,37200-000, Lavras/MG, heloisa.ufs@gmail.com
[2]Universidade Federal de Sergipe/Departamento de Eng. Agronômica, Av. Marechal Rondon S/N, São Cristóvão/SE, renatamann@gmail.com

Resumo- Objetivou-se com o presente trabalho adequar a metodologia do teste de tetrazólio para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de canafístula (*Cassia grandis* L.f.). Buscando definir o procedimento mais adequado para a condução deste teste, foram avaliados os seguintes procedimentos para a remoção do tegumento da semente: umedecimento em papel toalha e imersão em água por 24h a 30^{o}C, em câmara BOD. Em seguida, os embriões foram imersos em solução de tetrazólio 0,075%, 0,5% e 1% a 30^{o}C, no escuro, por 4, 8 e 12 horas para coloração. Os resultados indicaram que o teste de tetrazólio é eficiente para avaliar a viabilidade das sementes da espécie. Dentre os procedimentos testados para a remoção do tegumento, a imersão das sementes em água a 30ºC por 24 horas foi o pré-condicionamento que possibilitou a embebição das sementes. A coloração mais uniforme foi obtida quando as sementes foram imersas em solução de tetrazólio a 0,5% por 8 horas a 30℃ no escuro. É possível estabelecer dua s classes de viabilidade, sendo viáveis as sementes da classe 1 e não viáveis e mortas as da classe 2 e 3, respectivamente.

Palavras-chave: Canafístula, Viabilidade.
Área do Conhecimento: Ciências agrárias

Introdução

A avaliação da qualidade fisiológica é um parâmetro importante a ser considerado em um programa de produção de sementes, e, atualmente, testes que fornecem resultados em período de tempo relativamente curto são os mais demandados para agilizar as tomadas de decisão nas diferentes etapas do processo produtivo (BHERING *et al*, 2005).

O teste de tetrazólio tem se mostrado uma alternativa promissora pela qualidade e rapidez na determinação da viabilidade e do vigor da semente. É um teste que se baseia na atividade das enzimas desidrogenases, particularmente a desidrogenase do ácido málico que reduz o sal de tetrazólio nos tecidos vivos das sementes, onde íons de H^{+} são transferidos para o referido sal (DELOUCHE *et al*., 1976).

Trata-se de um teste que através da observação da coloração obtida nas diferentes partes da semente permite determinar a presença, a localização e a natureza das alterações nos tecidos das sementes (FRANÇA NETO *et al*., 1999), permitindo ainda identificar, muitas vezes, as causas da perda da viabilidade e do vigor.

A eficiência do teste em avaliar o vigor e a viabilidade das sementes está relacionada ao desenvolvimento de metodologia adequada para cada espécie, de modo a definir as condições mais apropriadas para o preparo, pré-condicionamento e coloração das sementes. Assim, o preparo e o pré-condicionamento das sementes antes da coloração são fatores decisivos (BHERING *et al*, 2005).

Para sementes que apresentam tegumento(s) impermeável(is) à água, métodos pré-germinativos, tais como imersão em água, perfurações ou escarificações, devem ser utilizados anteriormente à imersão dessas sementes na solução de tetrazólio. Este procedimento é chamado pré-condicionamento das sementes. Em trabalhos com *Platycyamus regnellii* (DAVIDE *et al*.,1995), e *Solanum lycocarpum* (MALAVASI *et al*.,1996), foi realizada escarificação manual das sementes e posterior embebição por 24 horas, para que se pudesse retirar os tegumentos que impedem a absorção da solução de tetrazólio

Contudo, a utilização de concentração da solução de tetrazólio e tempo de condicionamento e avaliação adequados, também são fundamentais para que se obtenham resultados confiáveis sobre a qualidade das sementes

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo verificar a eficiência de diferentes métodos de pré-condicionamento e concentrações da solução de tetrazólio na avaliação da viabilidade e vigor de lotes de sementes de canafístula.

Metodologia

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras, utilizando-se um mix de sementes de *Cassia grandis* L.f. provenientes da região do Baixo São Francisco Sergipano.

Para a realização do teste foi utilizado um lote de sementes de *C. grandis* referente a uma mistura composta de sementes de 10 indivíduos provenientes da região do Baixo São Francisco Sergipano.

Todas as sementes foram lixadas, na extremidade oposta ao eixo embrionário, para superar a dormência tegumentar com lixa nº60, sendo em seguida submetidas aos seguintes métodos de pré-condicionamento para a remoção do tegumento: embebição em papel toalha umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco em BOD a 30ºC por 24 horas e imersão direta em água a 30ºC por 24horas, em BOD.

Após cada tratamento, o tegumento das sementes foi removido com o auxilio de um estilete.

Os embriões foram imersos para coloração em solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio a 0,075%, 0,5% e 1% durante 4, 8 e 12 horas, no escuro, a 30ºC em BOD. Após cada período, foram, então, lavados em água corrente e imersos em água para a avaliação.

Para cada tratamento utilizaram-se quatro repetições de 25 embriões, totalizando 100 embriões por tratamento.

Após as avaliações de cada tratamento e definido, com base nas classes, os dados foram submetidos à análise da variância, utilizando-se do teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, sendo utilizado para tais análises o programa estatístico SISVAR® (FERREIRA, 2003).

Os embriões foram analisados individualmente, externa e internamente, após o seu seccionamento longitudinal, entre os cotilédones, tomando-se o cuidado para que o eixo embrionário fosse dividido longitudinalmente ao meio. Observou-se a ocorrência de danos nas faces interna e externa dos cotilédones e do eixo embrionário.

O lote de sementes foi submetido a teste preliminar para avaliação da viabilidade, por meio de teste de germinação. Para este teste foram utilizadas 80 sementes (quatro repetições de 20 sementes), distribuídos em gerbox, contendo areia de textura média lavada e esterilizada (125ºC por 24horas) , em temperatura de 25ºC, sob luz contínua, em germinador tipo Mangelsdorf. As avaliações foram realizadas diariamente de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), considerando-se a emergência de plântulas normais. O resultado foi expresso em percentagem.

O grau de umidade do lote foi determinado pelo método da estufa a 105ºC ± 3ºC por 24 horas, utilizando-se quatro repetições de 10 sementes por tratamento seccionadas com auxílio de uma tesoura de poda (SOUZA *et al*, 2005). O teor de água foi calculado com base no peso úmido (BRASIL, 1992).

Resultados e discussão

O lote apresentou percentagem de germinação média de 85% e grau de umidade de 14,36% na ocasião da realização do teste.

Dentre os procedimentos testados para a remoção do tegumento, a imersão das sementes em água a 30ºC por 24 horas foi o pré-condicionamento que possibilitou a embebição das sementes. O umedecimento em papel toalha a 30ºC por 24 horas, não se mostrou adequado, por não permitir a remoção do tegumento com facilidade, uma vez que as sementes não absorveram água suficiente para amolecer o tegumento, interferindo assim na penetração da solução de tetrazólio.

Segundo Copeland *et al*. (1976), o pré-condicionamento antes da coloração constitui uma das etapas críticas do teste. Estes autores ainda acrescentaram que a absorção lenta de água, em temperatura controlada, é extremamente desejável e necessária para prevenir fraturas de partes do embrião e estimular a atividade enzimática, que é um dos pré-requisitos do processo respiratório.

Verificou-se, ainda, que coloração mais uniforme e coerente com as recomendações de Moore (1972) foi obtida quando as sementes foram imersas em solução de tetrazólio a 0,5% por 8 horas a 30℃ no escuro. Os tecidos vigorosos coloriram-se de róseo brilhante, enquanto os tecidos em deterioração ou lesionados apresentavam-se vermelho carmim intenso.

Nas sementes, a área vital inclui o eixo hipocótilo-radícula e a região de inserção entre os cotilédones e o eixo. Com base nas observações de intensidade de coloração, profundidade e localização dos danos foram estabelecidas por seis classes de vigor. O potencial de vigor foi determinado pelo somatório do número de sementes das classes 1 a 3 e as sementes não viáveis pelo somatório das classes 4 a 6 (Figura 1).

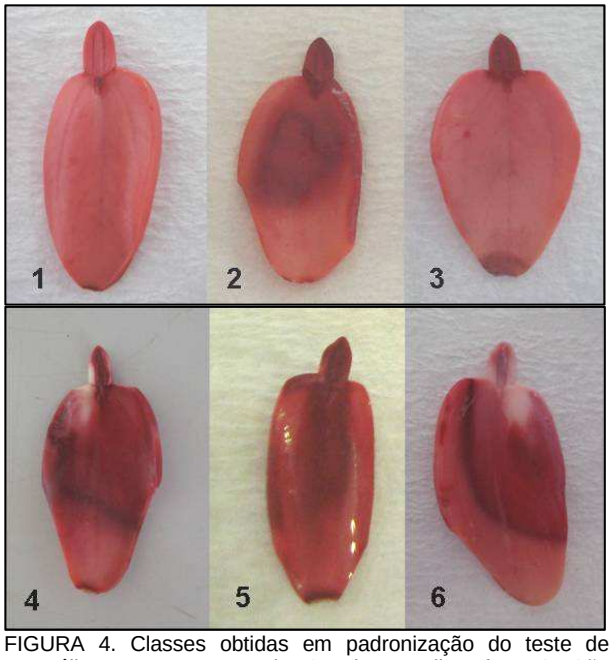

FIGURA 4. Classes obtidas em padronização do teste de tetrazólio para sementes de *Cassia grandis* L.f. UFS, São Cristóvão-SE, 2008.

Tais classes foram descritas como:

Classe 1 (viável): embrião com coloração rosa ou mais escura e tecidos com aspecto normal e firme;

Classe 2 (viável): menos de 50% dos cotilédones descoloridos, não afetando a região de ligação com o eixo embrionário. Demais regiões com coloração rosa ou mais escura e tecidos firmes;

Classe 3 (viável): embriões com coloração vermelho-intenso e tecidos firmes;

Classe 4 (inviável): mais de 50% dos cotilédones com coloração vermelho-intenso, apresentando tecidos flácidos;

Classe 5 (inviável): embrião com coloração vermelho-intenso e tecidos flácidos, indicando processo de deterioração;

Classe 6 (inviável): eixo embrionário completamente descolorido, apresentando os tecidos flácidos.

Com base nos dados expostos na Tabela 1, pode-se inferir que o tratamento referente à concentração 0,5% e tempo de embebição de 8 horas (82,50% de sementes viáveis) apresenta resultados equivalentes ao da percentagem de germinação do lote (85%) quando da realização do teste. Mesmo outras concentrações apresentando maiores percentagens de sementes viáveis, estes dados podem ter sido mascarados, devido à maior coloração dos tecidos, o que pode ter ocasionado uma super estimativa na interpretação dos dados equivalentes a sementes viáveis e inviáveis. Mesmo o tratamento referente à concentração de 5% e tempo de embebição de 4 horas ter apresentado 85% de sementes viáveis; não se faz favorável uma vez que este apresenta 10% das sementes classificadas como sem definição, devido a ineficiente embebição das sementes pelo curto tempo das mesmas em solução

TABELA 1- Sementes de *Cassia grandis* L.f. submetidas à avaliação de tetrazólio sob diferentes tempos de embebição e concentrações salinas. UFS, São Cristóvão, 2008.

Tratamentos (Tempo x conc.)	Sementes viáveis (%)	Sementes inviáveis (%)	Sem definição (%)
8h a 1%	97,50 a	2,50 b	0,00 b
4h a 1%	92,75 a	6,25 b	0,00 b
12h a 1%	93,75 a	5,00 b	1,25 b
12h a 0,075%	91,25 a	3,75 b	5,00 b
12h a 0,5%	91,25 a	3,75 b	5,00 b
4h a 0,5%	85,00 b	5,00 b	10,00 a
8h a 0,5%	82,50 b	17,50 a	0,00 b
8h a 0,075%	81,25 b	8,75 b	10,00 a
4h a 0,075%	72,50 b	8,75 b	18,75 a
CV(%)	8,84	59,57	31,31

Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferenciam pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A coloração obtida quando se utilizou a concentração 0,5% com embebição por 8 horas na solução, facilitou a avaliação dos embriões de canafístula, quando comparada às demais concentrações.

A escolha de metodologia adequada para o emprego do teste de tetrazólio deve se basear na facilidade para a diferenciação de tecidos viáveis e inviáveis e na capacidade de diferenciar lotes de qualidades fisiológicas distintas.

Conclusão

Os estudos realizados com o teste de tetrazólio em sementes de canafístula possibilitaram as seguintes conclusões:

(a) O teste de tetrazólio utilizando a concentração de 0,5%, com embebição na solução por 8 horas, pode ser usado para diferenciar lotes de sementes de *Cassia grandis* L.f. de qualidades fisiológicas distintas.

(b) O método utilizando embebição por vinte e quatro horas apresenta eficiência no pré-condicionamento de sementes de canafístula a 30ºC no escuro.

Referências

- 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. Rev. bras. sementes*, vol.27, no.1, p.176-182, 2005.

- BRASIL. Ministério da Agricultura. *Regras para análise de sementes.* Brasília: 1992. 365p.

- COPELAND, L.O. *Principles of seed science and technology.* Minneapolis: Burges Publishing Company, 1976. 369p.

- DAVIDE, A.C.; BOTELHO, S.A; MALAVASI, M.M. e OLIVEIRA, L.M. Avaliação da viabilidade de sementes de pau-pereira (*Platycyamus regnellii*). In: Congresso Brasileiro de Sementes, 5., 1995, Florianópolis. *Anais*... Florianópolis: ABRATES, 1995. p.178.

- FERREIRA, D.F. *Sisvar versão 4.2.* DEX/UFLA, 2003.

- FRANÇA NETO, J.B. Teste de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D. e FRANÇA NETO, J.B. *Vigor de sementes: conceitos e testes.* ABRATES: Londrina, 1999.

- MALAVASI, M.M.; DAVIDE, A.C.; OLIVEIRA, L.M.; BOTELHO, S.A.; TONETTI, O.A.O. Aplicação do teste de tetrazólio na avaliação da viabilidade de sementes de *Solanum lycocarpum* St. Hill.-Solanaceae- (fruta-de-lobo). In: Seminário Panamericano de Semillas, 15.; Workshop sobre Marketing em Sementes e Mudas, 3., 1996, Gramado. *Anais*...Gramado: CESM/FELAS, 1996.

- MOORE, R.P. Interpretation of color differences in tetrazolium testing. *Seed Technologist News*, v.44, n.3, p.22-24,1972.

- SOUZA, V. C.; BRUNO, R. L. A.; ANDRADE, L. A. Vigor de sementes armazenadas de Ipê amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nich. *Revista Árvore*, Viçosa-MG, vol.29, no.6, 2005.