

PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE *PTEROGYNE NITENS* TUL.

Autores: IZABELA NASCIMENTO RODRIGUES SANTOS, AILTON BATISTA OLIVEIRA JUNIOR, DANIELLE RODRIGUES DOS REIS, LUIZ HENRIQUE ARIMURA FIGUEIREDO, CRISTIANE ALVES FOGAÇA

Introdução

A espécie *Pterogyne nitens* Tul. popularmente conhecida como amendoim-bravo, amendoim e carne-de-vaca, é uma espécie da família Fabaceae de ocorrência do Nordeste do país até o oeste de Santa Catarina, sendo pioneira, característica da floresta latifoliada semidecídua e da caatinga. A espécie apresenta rusticidade e rapidez de crescimento sendo ótima para plantios mistos em áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 2008).

A maioria das sementes de espécies florestais arbóreas apresenta germinação lenta e muitas vezes, a ocorrência de dormência, em especial a tegumentar, o que dificulta a obtenção de resultados rápidos e conclusivos (FOGAÇA, 2015), como é o caso da espécie *P. nitens* cuja germinação ocorre de 10 a 35 dias (LORENZI, 2008). O tempo necessário para que ocorra o processo germinativo permite que as sementes se mantenham expostas ao ataque de fungos, mudanças de umidade no substrato, entre outros fatores que podem interferir no resultado final. Assim, os tecnólogos vêm buscando testes alternativos com resultados mais rápidos e menor interferência do meio, que possibilitem a determinação da qualidade fisiológica dos lotes avaliados, o que resultou em vários trabalhos científicos empregando o teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes florestais (FOGAÇA, 2015).

O teste de tetrazólio é um teste rápido que tem como objetivo avaliar viabilidade e vigor de sementes. É realizado com base na observação da coloração obtida nas diferentes partes da semente e permite determinar a presença, a localização e a natureza das alterações nos tecidos das sementes (FRANÇA NETO, 1999). A eficiência do teste para avaliar a viabilidade das sementes depende da utilização do método adequado para cada espécie, com a determinação de condições apropriadas para o pré-condicionamento, o preparo, a coloração e a avaliação das sementes (PINTO et al., 2008).

Assim, o objetivo deste trabalho foi padronizar o teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de *Pterogyne nitens*.

Material e métodos

O presente experimento foi conduzido no Centro de Referência em Recuperação de Áreas Degradadas (CRAD/Mata seca) do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES), Janaúba, MG. O lote de sementes foi coletado no Viveiro Escola do CRAD/Mata seca no mês de julho de 2017, sendo este beneficiado manualmente, embalado em sacos plásticos e mantido em refrigerador até o momento da avaliação. Para a caracterização do lote de sementes determinou o teor de água e o peso de mil sementes segundo prescrições das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

As sementes foram submetidas ao seguinte preparo: escarificação mecânica com lixa de papel no 80 seguida de embebição em água destilada, a 30 °C, por 24 horas, com posterior retirada do tegumento. Para o processo de coloração foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes acondicionadas em recipientes plásticos de 200 mL, onde adicionou-se a solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio (pH de 6,5 a 7,0) em quantidade suficiente para cobri-las. As concentrações avaliadas foram 0,075, 0,10 e 0,20%, por 1, 3 e 5 horas. Uma vez expostas à solução para o desenvolvimento de coloração as sementes foram mantidas em câmara a 35 °C, na ausência de luz,



Após os períodos de coloração, as soluções foram drenadas e as sementes lavadas em água corrente, mantidas em água em ambiente refrigerado até o momento da avaliação. As sementes foram analisadas uma a uma seccionando-as longitudinalmente através do centro do eixo embrionário com auxílio de bisturi. Para facilitar a interpretação, a visualização de todos os detalhes das sementes foi realizada com auxílio de uma lupa de mesa com lâmpada fluorescente de seis aumentos (6x).

A definição das melhores condições de coloração baseou-se nos aspectos dos tecidos e na intensidade e uniformidade de coloração que possibilitasse a diferenciação dos tecidos conforme critérios estabelecidos para o teste de tetrazólio: vermelho brilhante ou rosa (tecido vivo e vigoroso); vermelho-carmim forte (tecido em deterioração) e branco leitoso ou amarelado (tecido morto) (BHÉRING et al., 1996; FRANÇA-NETO, 1999).

Resultados e discussão

O lote de sementes utilizado apresentou teor de água de 10% e peso de mil sementes de 102g.

Os diferentes padrões de coloração obtidos pelas sementes conforme as condições de preparo e de coloração estão ilustrados na Figura 1.

As sementes quando submetidas à escarificação mecânica e embebição por 24 horas a 30 °C, com posterior retirada do tegumento, imersas em solução do tetrazólio, independente da concentração, no período de 1 hora a 35°C apresentaram coloração fraca e desuniforme, não permitindo a diferenciação dos tecidos vivos, deteriorados e mortos. Resultados semelhantes foram obtidos por Nogueira, Torres e Freitas (2014), onde a exposição de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong pelo período de uma hora nas concentrações de 0,050, 0,075 e 0,10%, resultou em coloração inadequada, assumindo um padrão muito claro, o que dificultou a interpretação dos resultados.

Avaliando o mesmo preparo com o aumento do tempo de coloração para 3 horas, verificou que nas concentrações de 0,075 e 0,10%, as sementes apresentaram coloração fraca e desuniforme, ou seja, o uso destas concentrações no período de coloração citado não foi suficiente para promover coloração adequada. A necessidade de padronização do teste deve ser realizada para cada espécie, pois padronizando a metodologia deste teste, Lamarca, Leduc e Barbedo (2009) informaram que a combinação de 2 horas, na concentração de 0,075%, mostrou-se eficiente para a avaliação de viabilidade de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. Já para a espécie *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, Nogueira, Torres e Freitas (2014) concluíram que a imersão das sementes em solução de tetrazólio a 0,075%, por 3 horas, foi mais eficaz para a avaliação da viabilidade.

Os melhores resultados obtidos empregando a escarificação mecânica seguida de embebição por 24 horas, com posterior retirada do tegumento, foram os tratamentos que empregaram soluções com concentrações de 0,20% por 3 horas e 0,075, 0,10 e 0,20% por 5 horas de coloração, que permitiram a obtenção de coloração adequada e uniforme. Pois, segundo Bhéring, Dias e Barros (2005), a interpretação segura e eficiente do teste de tetrazólio está diretamente relacionada a obtenção de coloração uniforme e adequada que possibilite a diferenciação dos tecidos vivos, deteriorados e mortos.

Conclusão/Conclusões/Considerações finais

As metodologias que permitiram a diferenciação dos tecidos foram as que submeteram as sementes de *Pterogyne nitens* a escarificação mecânica seguida de embebição por 24 horas, a 30 °C, com posterior retirada do tegumento e imersão em solução de tetrazólio a 0,20% por 3 horas e 0,075, 0,10 e 0,20% por 5 horas, a 35 °C, no escuro.



Agradecimentos

A Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES, pelo suporte técnico e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Unimontes/FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

Referências bibliográficas

- BHÉRING, M.C. et al. **Avaliação da viabilidade e vigor das sementes de feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio**. Viçosa: UFV, 1996. 38p.
- BHÉRING, 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.2, p.176-182, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regra para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ ACS, 2009. 399 p.
- FOGAÇA, C.A. Teste de tetrazólio e testes de vigor. In: PINÃ-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. **Sementes Florestais: da ecologia à produção**. Londrina: ABRATES, p.344-359, 2015.
- FRANÇA NETO, J.B. Teste de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.
- LAMARCA, E.V.; LEDUC, S.N.M.; BARBEDO, C.J. Viabilidade e vigor de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil - Leguminosae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Botânica**, v.32, n.4, p.793-803, 2009.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5ed. v.1, p.142, 2008.
- 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.2967-2976, 2014.
- PINTO, T.L.F. et al. Avaliação da viabilidade de sementes de coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora* Benth. - Fabaceae - Faboideae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.1, p.208-214, 2008.

Tabela 1. Colorações obtidas submetendo as sementes de *Pterogyne nitens* a diferentes condições de preparo e coloração

Preparo	Processo de coloração	Coloração obtida
Escarificação mecânica seguida de embebição por 24h, a 35 °C e posterior retirada do tegumento.	Todas as concentrações por 1 hora	Coloração fraca e desuniforme
	0,075% e 0,10% por 3 horas	Coloração fraca e desuniforme
	0,20% por 3 horas	Coloração adequada e uniforme
	Todas as concentrações por 5 horas	Coloração adequada e uniforme



Sementes com coloração fraca e desuniforme

Sementes com coloração adequada e uniforme

Figura 1. Padrões obtidos de coloração em sementes de *Pterogyne nitens*.