

SARA MONALIZA COSTA CARVALHO

**TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DE JUCÁ (*Libidibia ferrea*
(Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*)**

MOSSORÓ - RN
2016

SARA MONALIZA COSTA CARVALHO

**TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DE JUCÁ (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.)
L.P. Queiroz var. *ferrea*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-
Árido, como parte das exigências para a obtenção do
título de Mestre em Agronomia: Fitotecnia.

ORIENTADOR:

Prof. D.Sc. SALVADOR BARROS TORRES

COORIENTADORAS:

Profa. D.Sc. CLARISSE PEREIRA BENEDITO

D.Sc. NARJARA WALESSA NOGUEIRA DE FREITAS

MOSSORÓ – RN
2016

© Todos os direitos estão reservados a 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 tomar-se-á de domínio público após a data da defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu(a) respectivo(a) autor(a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
BIBLIOTECA CENTRAL ORLANDO TEIXEIRA - CAMPUS MOSSORÓ
Setor de Informação e Referência

C331t Carvalho, Sara Monaliza Costa.

Teste de tetrazólio em sementes de jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) / Sara Monaliza Costa Carvalho. - Mossoró, 2016.
70f: il.

Orientador: Prof. Dr. Salvador Barros Torres
Co-Orientador: Profa. Dra. Clarisse Pereira Benedito

Dissertação (MESTRADO EM FITOTECNIA) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

1. Sementes. 2. Jucá - *libidibia ferrea*. 3. Teste de tetrazólio. I. Título

RN/UFERSA/BOT/004

CDD 581.467

SARA MONALIZA COSTA CARVALHO

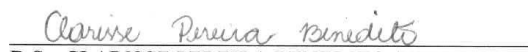
**TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DE JUCÁ (*Libidibia ferrea*
(Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*)**

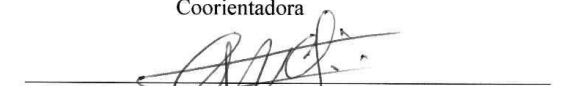
Dissertação apresentada ao
Mestrado em Fitotecnia do
Programa de Pós-Graduação
em Fitotecnia da Universidade
Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção
do título de Mestre.

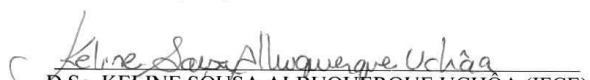
Defendida em: 12 / 02 / 2016.

BANCA EXAMINADORA


D.Sc. SALVADOR BARROS TORRES (UFERSA)
Orientador


D.Sc. CLARISSE PEREIRA BENEDITO (UFERSA)
Coorientadora


D.Sc. RAMIRO GUSTAVO VALERA CAMACHO (UERN)
Membro Examinador


D.Sc. KELINE SOUSA ALBUQUERQUE UCHÔA (IFCE)
Membro Examinador

Às três pessoas mais importantes que Deus colocou em minha vida: minha mãe Maria do Carmo Costa, meu esposo Leandro Carvalho de Medeiros e minha filha Amanda Thaís Carvalho Costa.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, que sempre tem demonstrado sua infinita bondade, me abençoando muito além do que eu possa imaginar. Obrigada Senhor, pelo teu cuidado!

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), da qual tenho a honra de ser servidora e de agora estar concluindo o mestrado através do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. Ao meu chefe, Leilson Costa Grangeiro, por ter consentido minha participação no mestrado como servidora estudante.

Ao meu orientador Salvador Barros Torres e à minha coorientadora Clarisse Pereira Benedito, com os quais tenho a alegria de conviver também profissionalmente. Desde que cheguei à UFERSA tenho aprendido muito com vocês. Muito obrigada pelo incentivo que sempre me deram. Serei sempre grata! À minha coorientadora Narjara Walessa Nogueira de Freitas, que foi fundamental para a realização desse trabalho.

Aos professores Ramiro Gustavo Valera Camacho e Keline Sousa Albuquerque Uchôa por aceitarem fazer parte da banca examinadora, disponibilizando uma parte do tempo de vocês para avaliar e contribuir com esse trabalho.

À minha mãe Maria do Carmo Costa, que valentemente assumiu o duplo papel de pai e mãe, me educando e me apoiando nos momentos mais difíceis. Obrigada pelo seu amor e por me ajudar a chegar até aqui. Sei que minhas vitórias também são suas.

Ao meu querido esposo Leandro Carvalho, pelo amor, paciência, carinho, compreensão e incentivo. Obrigada pelas madrugadas acordado para me ajudar e por me apoiar em tudo ao longo desses 12 anos de convivência.

À minha filha Amandinha (Amanda Thaís Carvalho Costa) que muitas vezes me acalmou com uma simples palavra ou sorriso. Obrigada filha, por ser uma criança tão amável. Você faz jus ao significado do seu nome Amanda, que é “digna de ser amada”. Obrigada por fazer os meus dias bem melhores!

Aos meus familiares e amigos, em especial à minha amiga Marcleide Guimarães pela disponibilidade em cuidar da minha filha para que eu pudesse estudar e trabalhar. Obrigada a todos vocês!

A toda a equipe do Laboratório de Análise de Sementes (LAS), incluindo os servidores Francisco César e Raimundo Nonato e a toda a equipe de pesquisa, destacando aqui, Adailha Torres, Maria Lília, Emanoela Pereira, Nadjamara Bandeira. Meu muito obrigada a todos vocês!

A todos que não foram citados diretamente, mas que também contribuíram para a realização desse trabalho. Agradeço a todos!

***Confie no Senhor de todo o seu coração e não se apoie
em seu próprio entendimento; reconheça o Senhor
em todos os seus caminhos, e ele endireitará as suas veredas.
(Provérbios 3:5-6)***

RESUMO

CARVALHO, Sara Monaliza Costa. **Teste de tetrazólio em sementes de jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*)**. 2016. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró - RN, 2016.

Atualmente o teste mais utilizado para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes é o de germinação. No entanto, este apresenta alguns entraves, sendo o maior deles o longo tempo para obtenção de resultados, principalmente para as espécies florestais. O teste de tetrazólio proporciona resultados rápidos e por isso tem se mostrado uma alternativa promissora na determinação da viabilidade de sementes dessas espécies. Todavia, o sucesso do teste depende do desenvolvimento de metodologia adequada para cada espécie. Assim, essa pesquisa teve como objetivo avaliar procedimentos destinados ao pré-umedecimento, preparo e coloração de sementes de jucá para o teste de tetrazólio. Os experimentos foram divididos em duas etapas. Enquanto no primeiro ensaio foram testadas condições de pré-umedecimento e preparo das sementes, o segundo foi dedicado à fase de coloração, onde foram testadas: três concentrações da solução de tetrazólio (0,05; 0,075 e 0,1%) e três períodos (1, 3 e 6 horas), nas temperaturas de 35 e 40 °C. As sementes foram classificadas em viáveis ou inviáveis de acordo com as colorações obtidas. Paralelamente, foi conduzido o teste de germinação para comparação dos resultados com as estimativas de viabilidade do teste de tetrazólio. Constatou-se que o teste de tetrazólio é eficiente para avaliar a viabilidade de sementes de jucá e para a sua execução recomenda-se a escarificação das sementes com lixa seguida de embebição em papel toalha por 42 horas a 25 °C e retirada do tegumento, com posterior imersão das sementes em solução de tetrazólio a 0,05% por 3 horas, a 35 ou 40 °C.

Palavras-chave: Fabaceae, teste rápido, sementes florestais

ABSTRACT

CARVALHO, Sara Monaliza Costa. **Tetrazolium test in seeds of jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.) LP Queiroz var. *ferrea*)**. 2016 70 f. Thesis (MS in Agronomy: Plant Science) - Federal Rural University of the Semi-Arid (UFERSA), Mossoro-RN, 2016.

Currently, the most widely used test for assessing the seed physiological quality is the germination. However, this presents some obstacles, the largest one, is a long time to obtain results, especially for forest species. The tetrazolium test provides fast results, and this has proved to be a promising alternative for the determination of viability of this kind of seed. However, the success of the test depends on the development of an appropriate methodology for each species. Thus, this research aimed to evaluate procedures for the pre-wetting, preparation and staining jucá seeds to tetrazolium test. The experiments have been divided into two steps. As in the first trial were tested pre-wetting conditions and seed preparation, the second was dedicated to the dyeing stage, in which three concentrations of tetrazolium solution were tested (0.05, 0.075 and 0.1%) and three periods (1, 3 and 6 hours) at the temperatures of 35 to 40 ° C. The seeds were sorted into viable or non-viable according to the colorations obtained. At the same time, the germination test was conducted to compare the results with the feasibility estimates by the tetrazolium test. It was found that the mentioned test is efficient to evaluate the feasibility of jucá seeds and to implement it is recommended the scarification of the seeds with sandpaper followed by soaked paper towel for 42 hours at 25 ° C and removal of the seed coat, with subsequent immersion of the seeds into the tetrazolium solution at 0.05% for 3 hours at 35 or 40 ° C.

Keywords: Fabaceae, quick test, forest seeds

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO III

Tabela 1	Resumo da análise de variância de sementes viáveis de jucá (<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. <i>ferrea</i>) obtido pelo teste de tetrazólio em diferentes concentrações e períodos de coloração, sob 35 e 40 °C, em comparação aos resultados do teste de germinação (testemunha)	61
Tabela 2	Médias de viabilidade de sementes de jucá (<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. <i>ferrea</i>) a partir do teste de tetrazólio conduzido em diferentes concentrações e períodos de coloração, sob temperatura de 35 °C.....	63
Tabela 3	Médias de viabilidade de sementes de jucá (<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. <i>ferrea</i>) a partir do teste de tetrazólio conduzido em diferentes concentrações e períodos de coloração, sob temperatura de 40 °C.....	65

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 1	Procedimentos de cortes em sementes de jucá (<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. <i>ferrea</i>) para serem analisadas pelo teste de tetrazólio.....	42
Figura 2	Absorção de água em sementes de jucá (<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. <i>ferrea</i>) com e sem escarificação.....	45
Figura 3	Sementes de jucá (<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. <i>ferrea</i>) submetidas às concentrações de 0,025 (A), 0,1 (B) e 1% (C) do sal de tetrazólio com a presença do tegumento.....	48
Figura 4	Sementes de jucá (<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. <i>ferrea</i>) submetidas às concentrações de 0,025 (A), 0,1 (B) e 1% (C) do sal de tetrazólio por meio de corte longitudinal.....	48
Figura 5	Sementes de jucá (<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. <i>ferrea</i>) submetidas às concentrações de 0,025; 0,1 e 1% (C) do sal de tetrazólio por meio da retirada do tegumento.....	48

CAPÍTULO III

Figura 1	Sementes de jucá (<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. <i>ferrea</i>) viáveis pelo teste de tetrazólio.....	62
Figura 2	Sementes de jucá (<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. <i>ferrea</i>) inviáveis pelo teste de tetrazólio.....	62

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL

TEÓRICO.....	15
1. INTRODUÇÃO GERAL	16
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1 A família.....	19
2.2 A espécie.....	21
2.3 Teste de tetrazólio.....	23
REFERÊNCIAS	28

CAPÍTULO II – PRÉ-UMEDECIMENTO E PREPARO DE SEMENTES DE JUCÁ (*Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.) LP Queiroz var. *ferrea*) PARA O TESTE DE TETRAZÓLIO.....

35

RESUMO	36
ABSTRACT.....	37
1. INTRODUÇÃO	38
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
2.1 Pré-umedecimento das sementes	40
2.2 Preparo das sementes	41
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
3.1 Resultados do pré-umedecimento.....	43
3.2 Resultados do preparo	46
4. CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

CAPÍTULO III - AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE JUCÁ (*Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.) LP Queiroz var. *ferrea*) PELO TESTE DE TETRAZÓLIO.....

53

RESUMO	54
ABSTRACT.....	55
1. INTRODUÇÃO	56
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	58

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4. CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	68

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO

1. INTRODUÇÃO GERAL

Libidibia ferrea (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea* é uma espécie da família Fabaceae, subfamília Caesalpinioideae que ocorre na Caatinga arbustiva e arbórea, sendo popularmente conhecida como jucá, pau-de-jucá, jucazeiro, muirá-itá, muirá-obi e pau-ferro (MAIA, 2004). É de fácil reconhecimento devido à presença de manchas claras no tronco, folíolos pequenos, flores amarelas e legumes duros (RIZZINI, 1995). A casca possui propriedades anti-inflamatórias e analgésicas, sendo, portanto, bastante utilizada na medicina popular (CARVALHO et al., 1996). Devido possuir cerne duro, a madeira é bastante utilizada para a produção de vigas, esteios, estacas e lenha (LACERDA, 2001). Os frutos amadurecem durante o mês de julho até o final de setembro, produzindo anualmente grandes quantidades de sementes (LORENZI, 2002). Suas sementes normalmente possuem dormência tegumentar, que pode ser superada por meio da escarificação química ou mecânica (AVELINO et al., 2012).

Nos últimos anos, o interesse pela conservação das florestas e pela recuperação de áreas degradadas tem sido crescente. No entanto, ainda existem poucas informações no tocante a análise da qualidade fisiológica de sementes, sobretudo para as que ocorrem no bioma Caatinga. Ultimamente, pesquisadores e técnicos têm demonstrado interesse em pesquisas ligadas à análise de sementes de espécies florestais no sentido de gerarem informações sobre a qualidade dessas, a fim de promover a padronização, o aperfeiçoamento e o estabelecimento dos métodos de análises (OLIVEIRA, 2012).

O jucá possui um alto potencial para ser empregado em programas de reflorestamento de áreas degradadas, pois é uma espécie secundária, sendo, portanto, tolerante a áreas abertas (LORENZI, 2002). Entretanto, para a

produção de mudas dessa espécie é necessário a utilização de sementes de qualidade. O teste que tradicionalmente tem sido utilizado para a avaliação da viabilidade de sementes é o teste de germinação. No entanto, esse teste apresenta alguns entraves, como o tempo que leva para a obtenção de resultados. Esse problema é ainda maior para as espécies florestais, que na maioria das vezes exigem um período muito grande para a finalização do teste. Em se tratando das sementes de jucá, a duração é de 20 dias (BRASIL, 2013), período considerado muito longo para a tomada de decisões quanto a utilização do lote de sementes.

Portanto, a busca pelo desenvolvimento de testes que proporcionem resultados rápidos tem sido intensa. Nesse sentido, o teste de tetrazólio mostra-se como promissor, já que dependendo da espécie os resultados podem ser fornecidos em até 24 horas. Todavia, como ainda não existem padrões estabelecidos para a condução do teste em sementes de jucá, são necessários estudos de procedimentos visando o pré-umedecimento, preparo e coloração das sementes. Normalmente, essas técnicas são peculiares para cada espécie, motivo que dificulta a padronização do teste.

Recentemente, sementes de diversas espécies florestais têm sido submetidas ao teste de tetrazólio, confirmando a possível utilização deste para avaliar a qualidade fisiológica. Dentre as espécies trabalhadas, estão *Melanoxylon brauna* (CORTE; BORGES; PEREIRA, 2010); *Copaifera langsdorffii* e *Schizolobium parahyba* (FOGAÇA et al., 2011); *Ceiba speciosa* (LAZAROTTO et al. 2011); *Piptadenia moniliformis* (AZERÊDO; PAULA; VALERI, 2011); *Palicourea rigida* (FAVA; ALBUQUERQUE, 2013); *Enterolobium contortisiliquum* (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014); *Eugenia uniflora* (KAISER et al., 2014); *Annona cherimola* (GIMENEZ; FERREIRA; CAVARIANI, 2014); *Cassia leptophylla* (GARLET; SOUZA; DELAZERI, 2015); *Erythrina velutina* (CUNHA;

GOMES, 2015). Todavia, tais pesquisas ainda são incipientes quando comparadas a quantidade de espécies florestais existentes.

Apesar da multiplicidade de usos do jucá, estudos relacionados à avaliação da qualidade fisiológica de sementes dessa espécie ainda são escassos, assim como para a grande maioria das espécies nativas do Brasil. A aplicação do teste de tetrazólio para sementes dessa espécie constitui um passo importante para a produção de mudas destinadas tanto à conservação como à comercialização, já que possibilita rapidamente o fornecimento de informações quanto ao desempenho na semeadura.

Assim, o objetivo deste trabalho foi estabelecer procedimentos adequados do teste de tetrazólio para a avaliação qualidade fisiológica de sementes de jucá.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A família

Fabaceae ou Leguminosae constitui a terceira maior família das angiospermas, com 727 gêneros e 19.327 espécies, as quais se encontram amplamente distribuídas nas regiões tropicais e em menor número nas regiões temperadas. No Brasil, existem 212 gêneros e 2.732 espécies nativas. Na Caatinga, essa família é muito bem representada, com 620 espécies (LIMA et al., 2015), constituindo-se em torno de um terço da riqueza desse bioma (LEWIS et al., 2005; QUEIROZ, 2009). Entre essas espécies, 144 são endêmicas (QUEIROZ; RAPINI; GIULIETTI, 2006).

De acordo com sistemas de classificação mais moderno (APG II-2003) e (APG III-2009), Fabaceae pertence a ordem Fabales, na qual também estão inseridas as famílias Polyaceae, Surinaceae e Quillajaceae. A família Leguminosae Juss. ou Fabaceae Lindl. (APG II-2003) está distribuída em três subfamílias: Papilionoideae (Faboideae), Mimosoideae e Caesalpinioideae.

Papilionoideae apresenta cerca de 13.800 espécies distribuídas em 483 gêneros e 28 tribos, sendo a maior subfamília das Fabaceae. Além disso, é a mais importante economicamente e a que apresenta maior número de espécies capazes de fixar o nitrogênio atmosférico (CARDOSO, 2008; RODRIGUES; GARCIA, 2008). Entre as espécies de interesse econômico dessa subfamília, destacam-se a soja (*Glycine max*), o feijão (*Phaseolus* spp.), o amendoim (*Arachis hypogaea*), a ervilha (*Pisum sativum*), o grão de bico (*Cicer arietinum*) e a alfafa (*Medicago sativa*) (CARDOSO et al., 2012). Dentre as espécies florestais nativas, destacam-se os gêneros *Dalbergia* (jacarandá-da-bahia e violeta), *Dipteryx* (baru e cumaru-ferro), *Erythrina* (corticeiras ou suinãs) e *Machaerium* (jacarandás) (GAIAD; CARVALHO, 2016).

Mimosoideae constitui a segunda maior subfamília entre as Fabaceae, com 82 gêneros e 3.270 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, com diversos gêneros em regiões temperadas (LEWIS et al., 2005). No Brasil, foram encontradas 580 espécies nativas (BARROSO et al., 1999). Dentre as elas, destacam-se gêneros como: *Acacia*, *Albizia* (farinha-seca), *Inga* (ingás), *Mimosa*, *Parkia* (fava-bolota e visgueiro) e *Piptadenia* (angicos) (GAIAD; CARVALHO, 2016).

Caesalpinioideae possui 171 gêneros e aproximadamente 2.250 espécies, distribuídas em quatro tribos (Caesalpinieae, Detarieae, Cassieae e Cercideae) (CHAPPILL, 1995; DOYLE et al., 2000; SOUZA; LORENZI, 2012). Alguns dos representantes dessa subfamília são: pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.), jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth.), tamarindo (*Tamarindus indica*) e o pau-ferro (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*).

A maioria das espécies da família leguminosae apresenta dormência tegumentar, o que dificulta germinação e a obtenção de mudas uniformes. Para Marcos Filho (2015), a causa de dormência mais comum nessa família é a impermeabilidade do tegumento e sua dureza, causada pela presença de uma camada cerosa, decorrente da deposição de lignina e ácidos graxos nas camadas de células paliçádicas, provocando baixa densidade dos poros nas camadas superficiais e bloqueio da fenda hilar em sementes secas, funcionando como uma válvula higroscópica.

2.2 A espécie

De acordo com a taxonomia, a espécie *Libidibia ferrea* pertence ao reino Plantae da divisão Angiosperma, classe Dicotyledonea, ordem Fabales, família Caesalpiniaceae (CRONQUIST, 1981), recentemente transferida do gênero *Caesalpinia* para o gênero *Libidibia* (QUEIROZ, 2009). Espécie de hábito arbóreo de distribuição natural no bioma Caatinga (AMORIM, 2014). Apresenta dispersão regular e descontínua, quase sempre com baixa densidade populacional (provavelmente devido à dormência das sementes). Forma copa arredondada, fechada e densa. Seu porte varia de 10 a 15 m de altura e o tronco varia de 40 a 60 cm de diâmetro, com bifurcações quando isolada. A casca externamente é acinzentada, lisa e fina, com manchas brancas irregulares, que se contrastam com partes mais escuras, que se renovam anualmente. As folhas são compostas, bipinadas e as flores amarelas e brilhantes, pequenas, reunidas em panícula terminal de até 20 cm de comprimento (LORENZI; MATOS, 2008). O fruto é um legume, indeiscente, chato, que ao amadurecer torna-se negro e chocalhante, já que as sementes se soltam da vagem, mas permanecem dentro do lóculo. Cada fruto contém 2 a 10 sementes elipsóides, amarelas ou marrons de consistência bastante dura (LORENZI, 2002).

As sementes de jucá apresentam dormência, cujo grau pode variar em função da localização da semente na vagem. Nogueira et al. (2010) verificaram que sementes na posição mediana da vagem apresentaram menor grau de dormência em relação às demais posições (distal e proximal). Tanto os tratamentos químicos (CÂMARA et al., 2008; AVELINO et al., 2012) como os tratamentos mecânicos (LIMA et al., 2006; COELHO et al., 2013), têm sido indicados para a superação de dormência nessa espécie.

O jucá é considerado economicamente importante devido às suas diversas utilizações. Na medicina popular, são muitas as propriedades terapêuticas: os frutos são antidiarréicos, anticatarrais e cicatrizantes e têm sido usados no tratamento de diabetes e na prevenção do câncer; as raízes são antitérmicas, antipiréticas e antidiarréicas; a entrecasca pode ser utilizada para o tratamento de feridas, contusões, asma e tosse crônica (BRAGA, 1976; NAKAMURA et al., 2002 a, 2002 b; MAIA, 2004). Algumas pesquisas mostram ainda que essa espécie possui ação antifúngica e antibacteriana, antiulcerogênica, anti-inflamatória e analgésica (LIMA et al., 1994; BACCHI et al., 1995; CARVALHO et al., 1996; XIMENES, 2004).

Além do uso medicinal, devido à presença de um cerne bastante duro, sua madeira também é bastante utilizada para a confecção de vigas, esteios, estacas e lenha e, por isso, tem sido devastada. (LACERDA, 2001). Também é considerada forrageira importante no Nordeste, tanto pela sua adaptação natural à região, como também por se constituir em fonte de alimento para os animais durante a seca (NASCIMENTO et al., 2002). Além disso, por ser uma espécie tolerante a áreas abertas, também pode ser utilizada em programas de reflorestamento de áreas degradadas (LORENZI, 2002).

2.3 Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio foi inicialmente desenvolvido por Lakon na década de 40 para estimar a qualidade de sementes de cereais, e desde então, vem sendo utilizado em sementes de diferentes espécies, sendo aprovado pela International Seed Testing Association (ISTA) (SAVONEN, 1999).

É um teste bioquímico que se baseia na atividade das enzimas desidrogenases, as quais catalisam as reações respiratórias no interior das mitocôndrias. Essas enzimas liberam íons de hidrogênio, os quais reagem com o sal 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio, reduzindo-o e formando um composto não difusível de cor vermelha, conhecido por trifenilformazan. Essa reação só ocorre no interior dos tecidos vivos da semente, indicando que as enzimas desidrogenases estão ativas, e conseqüentemente que há atividade respiratória nas mitocôndrias, permitindo dessa forma diferenciar tecido vivo e não vivo. A formação da coloração vermelho carmim claro indica tecido vigoroso; já o vermelho mais intenso indica tecido em deterioração, devido a maior intensidade de difusão da solução de tetrazólio pelas membranas celulares comprometidas de tais tecidos; a não coloração indica que não ocorre respiração, e que, portanto, o tecido está morto. (DELOUCHE et al., 1976; MOORE, 1985; AOSA, 2009; MARCOS FILHO, 2015).

Existem diversas vantagens na avaliação de sementes pelo teste de tetrazólio: não é afetado por fatores externos que influenciam o teste de germinação; avalia as condições físicas e fisiológicas de cada semente individualmente; produz resultados rápidos; identifica diferentes níveis de viabilidade; pode fornecer diagnóstico das causas da perda de viabilidade das sementes e pode ser realizado com equipamentos simples e baratos (FRANÇA-NETO; KRYZANOWSKI; COSTA, 1998).

Um aspecto fundamental a ser considerado para a avaliação da viabilidade de sementes pelo teste de tetrazólio é o conhecimento da morfologia da semente. Essa informação é essencial, tanto para a adequação do modo de preparo e coloração das sementes, como também para a avaliação da extensão dos danos, que dependem da localização das manchas (esbranquiçadas ou coloridas intensamente), a partir de observações das partes vitais, eixo embrionário (radícula, hipocótilo e plúmula) e tecido de reserva, de acordo com a espécie analisada (PIÑA-RODRIGUES; VALENTINI, 1995). Em sementes de leguminosas, a área vital ou crítica inclui a radícula, o hipocótilo, a plúmula, a região de inserção entre os cotilédones e o eixo embrionário (MARCOS-FILHO et al., 1987).

Diversos fatores podem interferir na obtenção de resultados satisfatórios no teste de tetrazólio, principalmente aqueles relacionados aos procedimentos de execução, como preparo das sementes antes da coloração, concentração da solução, período e temperatura de exposição à solução e critérios de interpretação (GASPAR-OLIVEIRA et al., 2011).

Segundo as Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009), para facilitar a absorção da solução de tetrazólio, o pré-umedecimento é necessário para algumas espécies e altamente recomendado para outras, pois sementes pré-umedecidas são geralmente menos susceptíveis a danos durante o seu preparo para o teste do que sementes secas, e podem ser cortadas ou perfuradas mais facilmente para expor o embrião à ação do tetrazólio. Ainda de acordo com as RAS, se o envoltório da semente impedir a embebição, ele deverá ser submetido a perfuração ou escarificação manual, como no caso de algumas espécies da família Fabaceae.

Para muitas espécies, além do pré-umedecimento, são necessários procedimentos para expor os tecidos e permitir melhor penetração da solução de tetrazólio. Tais procedimentos variam em função das características da

espécie, sendo os mais comuns: corte longitudinal, corte transversal, punção e retirada do tegumento, os quais são facilitados pelo pré-umedecimento (MARCOS-FILHO et al., 1987; BHÉRING et al., 1996).

Além do pré-umedecimento e dos procedimentos para a exposição dos tecidos, a concentração da solução do sal de tetrazólio, a temperatura, o tempo de coloração e a avaliação adequada de coloração das sementes são fundamentais para que se obtenham resultados confiáveis sobre a qualidade das sementes (AZERÊDO; PAULA; VALERI, 2011).

Em sementes florestais, variadas concentrações da solução de tetrazólio são encontradas na literatura. Mas, as menores concentrações têm sido indicadas, já que proporcionam menor gasto com o reagente, melhor visualização dos distúrbios de coloração e identificação dos diferentes tipos de injúrias (MARCOS-FILHO; CICERO; SILVA, 1987; KRZYŻANOWSKI; FRANÇA-NETO; HENNING, 1991).

Quanto à temperatura ideal para a coloração das sementes, a precisão do teste não é afetada por temperaturas entre 20 e 45 °C (ROCHA, 1976). Contudo, alguns autores recomendam temperaturas entre 35 e 40 °C para obtenção de uma coloração mais rápida. Em espécies florestais, recomenda-se temperaturas entre 30 e 40 °C. Normalmente, temperaturas acima de 45°C não são indicadas (GRABE, 1976; PIÑA-RODRIGUES; VALENTINI, 1995; BHÉRING et al., 1996; FRANÇA-NETO; KRZYŻANOWSKI; COSTA, 1998).

O tempo necessário para coloração adequada também varia conforme a espécie. Durante essa fase, as sementes devem permanecer submersas na solução de tetrazólio na ausência de luz, pois esta pode provocar alterações na coloração da solução, causando possíveis erros na interpretação do teste. Terminado o período de coloração, as sementes são lavadas em água corrente e mantidas submersas em água até o momento da avaliação (FRANÇA-

NETO; KRYZANOWSKI; COSTA, 1998). Se a avaliação não for realizada imediatamente após a coloração, as sementes podem ser mantidas em ambiente refrigerado por até 12 horas. No caso de espécies florestais, as sementes podem permanecer em água no refrigerador por até 24 horas, no escuro (PIÑA-RODRIGUES; VALENTINI, 1995).

As sementes devem ser avaliadas individualmente, observando-se os danos ocorridos tanto na parte interna como na parte externa, sua localização e extensão (BHÉRING et al., 1996). Uma única fratura ou um pequeno ponto morto em uma posição vital ou crítica pode tornar não viável uma semente que, não fora isso, seria sadia. Por isso se faz tão necessário o conhecimento das estruturas da semente (ROCHA, 1976; DIAS; BARROS, 1999). Além disso, é importante também que o profissional que faz a análise seja bem qualificado para a avaliação e interpretação do padrão de coloração das sementes, pois os resultados ficarão comprometidos se o analista não tiver habilidade, paciência e experiência na identificação dos tecidos vivos e deteriorados (AZERÊDO; PAULA; VALERI, 2011).

É bastante frequente em trabalhos envolvendo metodologia de tetrazólio, a comparação dos resultados desse teste com o teste de germinação, a fim de verificar a existência de correlação positiva entre ambos. Essa correlação positiva já foi constatada para diversas espécies florestais, incluindo representantes da família Fabaceae: canafístula (*Peltophorum dubium*) (OLIVEIRA; CARVALHO; DAVIDE, 2005); sucará (*Gleditschia amorphoides*) (FOGAÇA et al., 2006); coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora*) (PINTO et al., 2008); corezeiro (*Parkia velutina*) (MENDES; BASTOS; MELO, 2009); pau-brasil (*Caesalpinia echinata*) (LAMARCA; LEDUC; BARBEDO, 2009); amburana (*Amburana cearenses*) (GUEDES et al., 2010); leucena (*Leucaena leucocephala*) (COSTA; SANTOS, 2010); angico (*Anadenanthera peregrina*) (PINHO et

al., 2011); catanduva (*Piptadenia moniliformis*) (AZERÊDO; PAULA; VALERI, 2011); timbaúba (*Enterolobium contortisiliquum*) (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014); mulungu (*Erythrina velutina*) (CUNHA; GOMES, 2015).

REFERÊNCIAS

AMORIM, L. D. M. **Fabaceae lindl. da floresta nacional de Assú, semiárido do Rio Grande do Norte, Brasil**. 2014. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais). Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais, Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Mossoró. 2014.

APG II Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 141, n. 1, p. 399-436, 2003.

APG III (*Angiosperm Phylogeny Group III*) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 161, n. 1, p. 105-121, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS – AOSA. **Seed vigour testing handbook**. East Lansing: AOSA, 2009. 334 p.

AVELINO, J. I.; LIMA, J. S. S.; RIBEIRO, M. C. C.; CHAVES, A. P.; RODRIGUES, G. S. O. Métodos de quebra de dormência em sementes de jucá (*Caesalpinia ferrea* (Mart. ex Tul.) var. *ferrea*). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 7, n.1, p. 102-106, 2012.

AZERÊDO, 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. 061-068, 2011.

BACCHI, E. M.; SERTIE, J. A. A.; VILLA, N.; KATZ, H. Antiulcer action and toxicity of *Styrax camporum* and *Caesalpinia ferrea*. **Planta Medica**, v. 61, n. 3, p. 204–207, 1995.

BARROSO, G. M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Imprensa Universitária, Viçosa, 1999. 443p.

BHERING, M. C.; SILVA, R. F.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, D. N. F. S.; PENA, M. F. **Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio**. Viçosa: UFV, 1996. 27 p.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste especialmente do Ceará**. 3.ed. Mossoró: ESAM, 1976. 540 p.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Coordenação Geral de Apoio Laboratorial. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Brasília, DF, 2013. 97 p.

CÂMARA, F. A. A.; TORRES, S. B.; GUIMARÃES, I. P.; OLIVEIRA, M. K. T.; OLIVEIRA, F. A. Biometria de frutos e sementes e superação de dormência de jucá (*Caesalpinia ferrea* mart. ex tul (leguminosae –caesalpinoideae). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 4, p. 172-178, 2008.

CARDOSO, D. B. O. S. **Taxonomia da tribo Sophoreae. I. (Leguminosae, Papilionoideae) na Bahia, Brasil**. 209 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2008.

CARDOSO, D.; QUEIROZ, L. P.; PENNINGTON, R. T.; LIMA, H. C.; FONTY, E.; WOJCIECHOWSKI, M. F.; LAVIN, M. Revisiting the phylogeny of papilionoid legumes: new insights from comprehensively sampled Early-branching lineages. **American Journal of Botany**, Missouri, v. 99, n. 12, p. 1991-2013, 2012.

CARVALHO, J. C. T.; TEIXEIRA, J. R. M.; SOUZA, P. J. C.; BASTOS, J. K.; FILHO, D. S.; SARTI, S. J. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpinia ferrea* crude extract. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 53, n. 3, p. 175-178, 1996.

CHAPPILL, J. A. Cladistic analysis of the Leguminosae: the development of an explicit phylogenetic hypothesis. In: M. D. CRISP; J. J. DOYLE (Eds.). **Advances in legume systematics**. Royal Botanic Gardens, Kew, v. 7, p. 1-9, 1995.

COELHO, M. F. B.; CAVALCANTE NETO, M. H.; BARBOSA, M. K. R.; OLIVEIRA, M. C.; LIMA, A. K. B. Superação da dormência em sementes de *Caesalpinia ferrea* (Mart. ex Tul.) var. *ferrea* de duas populações. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 8, n. 4, p. 179-182, 2013.

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* Schot. **Revista Cerne**, Lavras, v. 16, n. 3, p. 415-421, 2010.

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, 2010.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Part II (Classe Magnoliopsida – Rosidae e Asteridae). New York: Columbia University Press, 1981.

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, 2015.

DELOUCHE, J. C.; STILL, T. W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da sementes**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103 p.

DIAS, M. C. L. L.; BARROS, A. S. R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de milho. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 8.4-1 – 8.4-9.

DOYLE, J. J.; CHAPPILL, J. A.; BAILEY, D. C.; KAJITA, T. **Towards a comprehensive phylogeny of legumes: evidence from rbcL sequences and non-molecular data**. In: HERENDEEN, P. S.; BRUNEAU, A. (Ed.): advances in legume systematics, Royal Botanic Gardens, Kew, p. 1-20, 2000.

FAVA, C. L. F.; ALBUQUERQUE, M. C. F. Viabilidade e emergência de plântulas de *Palicourea rigida* Kunth em função de diferentes métodos para superação de dormência. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 2620-2629, 2013.

FOGAÇA, C. A.; MALAVASI, M. M.; ZUCARELI, C.; MALAVASI, U. C. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 101-107, 2006.

FOGAÇA, C. A.; KROHN, N. G.; SOUZA, M. A.; PAULA, R. C. Teste de tetrazólio em sementes de *Copaifera langsdorffii* e *Schizolobium parahyba*. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 41, n. 4, p. 895 - 904, 2011.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA/CNPQ, 1998. 72 p.

GAIAD, S.; CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Agência Embrapa de Informação Tecnológica – Embrapa. Disponível em: www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/especies_arboreas_brasileiras/arvore/CONT000fu18ojjh02wyiv807nyi6slnbxeqm.html. Acesso em: 11 Jan. 2016

GARLET, J.; SOUZA, G. F.; DELAZERI, P. Teste de tetrazólio em sementes de *Cassia leptophylla*. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11 n. 21, p. 1800-1808, 2015.

GASPAR-OLIVEIRA, C. M.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Pré-condicionamento das sementes de mamoneira para o teste de tetrazólio. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 303-311, 2011.

GIMENEZ, J. I.; FERREIRA, G.; CAVARIANI, C. Tetrazolium test for assessment of seed viability of atemoya (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.). **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 36, n. 3, p. 357-361, 2014.

GRABE, D. F. **Manual do teste de tetrazólio**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 85 p.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; VIANA, J. S.; SILVA, K. B.; GOMES, M. S. S. Metodologia para teste de tetrazólio em sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 120-126, 2010.

KAISER, D. K.; FREITAS, L. C. N.; BIRON, R. P.; SIMONATO, S. C.; BORTOLINI, M. F. Adjustment of the methodology of the tetrazolium test for estimating viability of *Eugenia uniflora* L. seeds during storage. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 36, n. 3, p. 344-351, 2014.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 15-50, 1991.

LACERDA, S. N. **Estudo de diferentes técnicas de armazenagem para conservação de sementes nativas do semi-árido paraibano**. 2001. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 2001.

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.

LAZAROTTO, M.; PIVETA, G.; MUNIZ, M. F. B.; REINIGER, L. R. S. Adequação do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Ceiba speciosa*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1243-1250, 2011.

LEWIS, G., SCHRIRE, B., MACKINDER, B.; LOCK, M. **Legumes of the world**. Royal Botanic Gardens, Kew, 2005. 577 p.

LIMA, E. C.; CURY, A. E.; FISCHMAN, O. G.; GIESBRECHT, A. M.; PAULO, M. Q. Atividade antifúngica de extratos de plantas medicinais sobre *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton* isolados de pacientes com dermatofitoses. **13th Brazilian Symposium in Medicinal Plants**. Ceará, Brasil, 1994.

LIMA, H. C. DE; QUEIROZ, L. P.; MORIM, M. P.; SOUZA, V. C.; DUTRA, V. F.; BORTOLUZZI, R. L. C.; IGANCI, J. R. V.; FORTUNATO, R. H.; VAZ, A. M. S. F.; SOUZA, E. R.; FILARDI, F. L. R.; VALLS, J. F. M.; GARCIA, F. C. P.; FERNANDES, J. M.; MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; PEREZ, A. P. F.; MANSANO, V. F.; MIOTTO, S. T. S.; TOZZI, A. M. G. A.; MEIRELES, J. E.; LIMA, L. C. P.; OLIVEIRA, M. L. A. A.; FLORES, A. S.; TORKE, B. M.; PINTO, R. B.; LEWIS, G. P.; BARROS, M. J. F.; SCHÜTZ, R.; PENNINGTON, T.; KLITGAARD, B. B.; RANDO, J. G.; SCALON, V. R.; CARDOSO, D. B. O. S.; COSTA, L. C.; SILVA, M. J.; MOURA, T. M.; BARROS, L. A. V.; SILVA, M. C. R.; QUEIROZ, R. T.; SARTORI, A. L. B.; CAMARGO, R. A.; LIMA, I. B.; COSTA, J.; SOARES, M. V. B.; SNAK, C.; SÃO-MATEUS, W.; FALCÃO, M. J.; MARTINS, M. V.; REIS, I. P.; CORDULA, E. *Fabaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB115>>. Acesso em: 29 Dez. 2015

LIMA, J. D.; ALMEIDA, C. C.; DANTAS, V. A. V.; SILVA, B. M. S.; MORAES, W. S. Efeito da temperatura e do substrato na germinação de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. (Leguminosae, Caesalpinoideae). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 4, p. 513-518, 2006.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 368 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 512 p.

MAIA, G. N. **Caatinga**: árvores e arbustos e suas utilidades. São Paulo: D & Z Computação Gráfica e Editora, 2004. 413 p.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2015. 659 p.

MARCOS-FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: ESALQ, 1987. 230 p.

MENDES, A. M. S.; BASTOS, A. A.; MELO, M. G. G. Padronização do teste de tetrazólio em sementes de *Parkia velutina* Benoist (Leguminosae – Mimosoideae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 39, n. 4, p. 823-828, 2009.

MOORE, R.P. **Handbook on tetrazolium testing**. Zurich: International Seed Testing Association, 1985. 99 p.

NAKAMURA, E. S.; KUROSAKI, F.; ARISAWA, M.; MUKAINAKA, T.; TAKAYASU, J.; OKUDA, M.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; PASTORE, F. Cancer chemopreventive effects of a Brazilian folk medicine, Juca, on in vivo two-stage skin

carcinogenesis. **Journal Ethnopharmacol**, Limerick, v. 81, n. 1, p. 135-137. 2002 a.

NAKAMURA, E.S. KUROSAKI, F.; ARISAWA, M.; MUKAINAKA, T.; TAKAYASU, J.; OKUDA, M.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; PASTORE, F. Cancer chemopreventive effects of *Caesalpinia ferrea* and related compounds. **Cancer Letters**, Amsterdam, v.177, n. 2, p.119-124, 2002 b.

NASCIMENTO, M. P. S. C. B.; OLIVEIRA, M. E.; MIURA, C. L. Q.; REIS, J. C. B.; NASCIMENTO, H. T. S.; LEITE, J. M.B.; LOPES, J. B.; RIBEIRO, V. Q. Potencial forrageiro do pau-ferro. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 41. Teresina: Embrapa, Outubro, 2002. 16 p.

NOGUEIRA, N. W.; MARTINS, H. V. G.; BATISTA, D. S.; RIBEIRO, M. C. C.; BENEDITO, C. P. Grau de dormência das sementes de jucá em função da posição na vagem. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 5, n.1, p. 39-42, 2010.

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.

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, 2005.

OLIVEIRA, O. S. **Tecnologia de sementes florestais: espécies nativas**. Curitiba: Ed. da UFPR, 2012. 404 p.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; VALENTINI, S. R. T. Teste de tetrazólio. In: SILVA, A.; PIÑA-RODRIGES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (coord.). **Manual de análise de sementes florestais**. São Paulo: Instituto Florestal, 1995. p. 61-73

PINHO, D. S.; BORGES, E. E. L.; CARVALHO, A. P. V. CORTE, V. B. 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, 2011.

PINTO, T. L. F.; BRANCALION, P. H. S.; NOVENBRE, A. D. L. C.; CICERO, S. M. Avaliação da viabilidade de sementes de coração-de-negro (*Poecilanthus parviflora* Benth. - Fabaceae-Faboideae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 208-214, 2008.

QUEIROZ, L. P. **Leguminosas da Caatinga**. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana/Royal Botanic Gardens, Kew, Associação Plantas do Nordeste, 2009. 443 p.

QUEIROZ, L. P.; RAPINI, A.; GIULIETTI, A. M. (Orgs.). **Towards Greater Knowledge of the Brazilian Semi-arid Biodiversity**. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2006. 138 p.

RIZZINI, C. T. **Botânica econômica brasileira**. 2.ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 1995. 248 p.

ROCHA, F. F. **Manual do teste de tetrazólio em sementes**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 85 p.

RODRIGUES, I. M. da C.; GARCIA, F. C. P. Papilionoideae (Leguminosae) na Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais, Brasil: ervas, subarbustos e trepadeiras. **Hoehnea**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 519-536, 2008.

SAVONEN, E. An improvement to the topographic tetrazolium testing of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 26, n. 1, p. 49-57, 1999.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas e nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012. 768 p.

XIMENES, N. C. A. **Purificação e caracterização da lectina da vagem de *Caesalpineia ferrea* (CfePL): aplicação biológica**. 2004. 53 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pernambuco, Recife, 2004.

CAPÍTULO II

PRÉ-UMEDECIMENTO E PREPARO DE SEMENTES DE JUCÁ (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) PARA O TESTE DE TETRAZÓLIO

RESUMO

CARVALHO, Sara Monaliza Costa. **Pré-umedecimento e preparo de sementes de jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) para o teste de tetrazólio** 2016. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2016.

O teste de tetrazólio requer o pré-umedecimento das sementes objetivando ativar o metabolismo enzimático. Para muitas espécies, além dessa fase, são necessários procedimentos adequados para facilitar a penetração da solução de tetrazólio nas sementes, os quais podem ser: punção, cortes e/ou retirada do tegumento. Nesse sentido, o objetivo dessa pesquisa foi estabelecer os procedimentos adequados de pré-umedecimento e preparo em sementes de jucá para serem avaliadas pelo teste de tetrazólio. Para isso, determinou-se a curva de absorção de água pelas sementes escarificadas e não escarificadas, a fim de verificar o tempo necessário para o pré-umedecimento. Após essa fase, avaliou-se três procedimentos de preparo (sementes intactas, corte longitudinal e retirada do tegumento), utilizando-se três concentrações do sal de tetrazólio (0,025; 0,1 e 1%). Os resultados demonstraram que além do pré-umedecimento das sementes de jucá, é necessário também a fase de preparo destas. Portanto, a escarificação das sementes de jucá com lixa, seguida do pré-umedecimento entre papel toalha (*Germitest*) por 42 horas, a 25 °C, com posterior retirada do tegumento, é o procedimento mais adequado antes da imersão das sementes na solução de tetrazólio.

Palavras-chave: sementes nativas, procedimentos de preparo, tetrazólio

ABSTRACT

CARVALHO, SaraMonaliza Costa. **Pre-wetting and preparation of jucá seeds (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) for the tetrazolium test** 2016.70 f. Thesis (MS in Agronomy: Plant Science) - Federal Rural University of the Semi-Arid (UFERSA), Mossoro-RN, 2016.

The tetrazolium test requires the pre-wetting of the seeds aiming to activate the enzymatic metabolism. For many species, beyond this stage, appropriate procedures are necessary to facilitate penetration of the tetrazolium solution in seeds, such as punching, cutting and the removal of the seed coat. So, the objective of this research was to establish the appropriate procedures for pre-wetting and preparation the jucá seeds to be evaluated by the tetrazolium test. So, it has been determined the water absorption curve by the scarified and not-scarified seeds, to verify the time required for the pre-wetting. After this phase, we evaluated three preparation procedures (intact seed, slitting and removal of the seed coat), using three concentrations of the tetrazolium salt (0.025, 0.1 and 1%). The results showed that in addition to the pre-wetting of jucá seeds, it is also required their preparation phase. Therefore, the scarification of the jucá seeds with sandpaper, followed by pre-wetting of paper towel (Germitest) for 42 hours at 25 ° C, followed by the removal of the seed coat is the most suitable procedure before the immersion of the seeds in the solution of tetrazolium.

Keywords: native seeds, preparation procedures, tetrazolium

1. INTRODUÇÃO

O bioma Caatinga apresenta grande diversidade de espécies vegetais, entre estas destaca-se as da família Fabaceae, como a *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*, também conhecida como jucá ou pau-ferro. É uma espécie de porte arbóreo, perenifólia ou semidecídua, heliófita e de ampla dispersão, ocorrendo desde os estados do Piauí até o Rio de Janeiro (MAIA, 2004).

É considerada uma espécie multiuso, sendo muito empregada para a produção de carvão, lenha, tábuas, moirões, estacas e cercas, além da sua utilização como fitoterápico na farmacopeia popular e na alimentação animal (SANTANA et al., 2011). Sua madeira tem uso múltiplo, de elevada densidade e longa durabilidade natural, sendo recomendada para reflorestamentos mistos destinados à recuperação de áreas degradadas (CARVALHO, 1994; LORENZI, 2002). Diante da grande importância dessa espécie para os mais diversos usos, torna-se necessário a obtenção de informações sobre a qualidade de suas sementes.

A determinação da viabilidade de sementes de jucá pelo teste de germinação é demorada, pois são necessários 20 dias para a finalização do teste (BRASIL, 2013). Esse longo período dificulta a tomada de decisões quanto a utilização das sementes para fins de armazenamento, semeadura, comercialização ou descarte.

O teste de tetrazólio, por ser um teste bioquímico, produz resultados expressivamente mais rápidos que o teste de germinação, o que é bastante vantajoso, levando em consideração principalmente as espécies florestais, que na maioria das vezes demandam longos períodos para germinarem. No entanto, para que haja eficiência nos resultados, é necessário que a solução de tetrazólio seja adequadamente absorvida pelas sementes. Para isso, algumas

espécies necessitam de um período de pré-umedecimento antes de serem imersas na solução. Essa fase é importante para ativar o metabolismo enzimático das sementes.

Para facilitar a fixação da solução de tetrazólio nas sementes, recomenda-se o seu pré-umedecimento, que consiste em colocá-las para embebição em água por um determinado período. Porém, muitas vezes, apenas o pré-umedecimento não é suficiente para que as sementes desenvolvam a coloração adequada. Muitas sementes necessitam, além disso, de outros procedimentos que favoreçam a penetração do sal de tetrazólio. Essas técnicas podem ser: a punção, o corte e/ou a remoção do tegumento. (ZUCARELI et al., 2001; NERY; CARVALHO; OLIVEIRA, 2007; COSTA; SANTOS, 2010). O pré-umedecimento, facilita também a manipulação dessas técnicas, já que a semente ficará com o tegumento e a estrutura interna amolecidas.

Na literatura, o pré-umedecimento das sementes de espécies florestais e seu preparo já foram objetos de estudos. Em timbaúba, utilizou-se a imersão das sementes em água a 25 °C por 24 horas, seguida da retirada do tegumento (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014). Com sementes de catanduva, Azerêdo, Paula e Valeri (2011) utilizaram à temperatura de 25 °C por 24 horas, sendo as sementes acondicionadas entre papel toalha e retirada do tegumento. Em sementes de leucena, o pré-umedecimento foi direto em água, a 30 °C, durante 60 minutos (COSTA; SANTOS, 2010).

O objetivo desse estudo foi estabelecer o procedimento adequado de preparo de sementes de jucá para serem avaliadas pelo teste de tetrazólio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As sementes foram cedidas pela Rede de Sementes da Caatinga da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), tendo sido os frutos coletadas em junho de 2012 no sítio Cacimba Nova, Conceição, PB (07° 33' 44" S, 38° 30' 32" W e 376 metros de altitude). Ao chegarem ao Laboratório de Análise de Sementes da UFERSA, estas foram acondicionadas em embalagem de saco plástico e armazenadas em câmara fria (17 °C e 50% de umidade relativa do ar) até o início da fase experimental. O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Ciências Vegetais (DCV) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró - RN, nos meses de janeiro e fevereiro de 2015.

2.1 Pré-umedecimento das sementes

Primeiramente, determinou-se o teor de água das sementes pelo método da estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 24 horas (BRASIL, 2009). A seguir foi determinada também a curva de embebição utilizando-se sementes escarificadas com lixa nº 80 e não escarificadas, com duas subamostras de 50 sementes para cada procedimento. Estas foram postas em três folhas de papel toalha (*germitest*), umedecido com água destilada na quantidade de 2,5 vezes a massa do papel seco, dobradas e colocadas em saco plástico para manter a umidade. Em seguida, os sacos com os rolos de papel foram acondicionadas em câmaras de germinação do tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B. O. D), a 25 °C.

Antes de serem submetidas à embebição, as sementes foram pesadas (peso inicial) e após o início da embebição, em intervalos regulares. Para isso,

as sementes eram retiradas, secadas em papel toalha e pesadas em balança de precisão (0,001 g) até a emissão de radícula para cada subamostra. Os intervalos de pesagens foram a cada uma hora (do início até às cinco horas de embebição); a cada duas horas (das seis até às 14 horas de embebição); e, em intervalos de três horas (das 14 às 52 horas de embebição das sementes), período este que ocorreu a emissão da radícula. O ganho de peso das sementes foi calculado de acordo com a seguinte fórmula proposta por Cromarty, Ellis e Roberts (1985):

$$GP = \left(\frac{Pf - Pi}{Pi} \right) \times 100$$

Sendo:

Pf = peso final (ganho de umidade a cada período de embebição).

Pi = peso inicial das sementes antes da embebição.

2.2 Preparo das sementes

Por meio da curva de absorção de água pelas sementes foi possível determinar o tempo de pré-umedecimento para a realização dos procedimentos. Assim, as sementes previamente escarificadas com lixa foram pré-umedecidas até 42 horas, período considerado suficiente para a ativação enzimática e amolecimento das estruturas interna e externa das sementes. Dessa forma, empregou-se o mesmo substrato e temperatura utilizados para a marcha de absorção de água pelas sementes, sendo o substrato reumedecido quando necessário. Os procedimentos avaliados foram os seguintes: sementes com tegumento (Figura 1A), corte longitudinal (Figura 1B) e retirada do tegumento (Figura 1C).



Figura 1. Procedimentos de cortes em sementes de jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) para serem analisadas pelo teste de tetrazólio: com tegumento (A), corte longitudinal (B) e retirada do tegumento (C).

O corte longitudinal e a retirada dos tegumentos foram feitos com auxílio de bisturis. Em seguida, duas repetições de 25 sementes para cada procedimento foram postas em copos plásticos, imersas em solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio, nas concentrações de 0,025, 0,1 e 1% e mantidas em câmara do tipo B.O.D., no escuro, a 35 °C. As sementes imersas na solução foram observadas durante três horas, com intervalos de uma hora, para verificar a uniformidade na coloração dos tecidos.

Terminado o período de coloração, as sementes foram retiradas da câmara, lavadas em água corrente e mantidas imersas em água durante a avaliação. Para as sementes intactas e para as sem tegumento, foi necessário seccioná-las longitudinalmente, para que fosse possível observar não só a coloração externa, mas também a interna.

Para este trabalho não se utilizou a análise estatística, tendo em vista que na comparação entre os procedimentos de preparo para o teste de tetrazólio, considerou-se o que mais possibilitou a coloração do tom rosado e uniforme nas sementes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Resultados do pré- umedecimento

O grau de umidade inicial das sementes de jucá foi de 10%. Em se tratando do comportamento quanto à absorção de água, àquelas que foram submetidas à escarificação mecânica elevaram gradativamente o seu grau de umidade e seguiram o padrão trifásico proposto por Bewley e Black (1994). Por outro lado, as sementes intactas absorveram quantidade de água insignificante, permanecendo praticamente com o mesmo grau de umidade inicial, não obedecendo, portanto ao padrão trifásico de embebição.

A determinação da curva de absorção de água é importante para obter informações sobre o comportamento da semente em relação ao ganho de água. Esse ganho de água provoca modificações internas na semente, as quais contribuirão muitas vezes para melhor penetração do sal de tetrazólio, além de provocar o amolecimento da semente para a realização dos cortes, caso necessário (BHÉRING et al., 1996).

No padrão trifásico de germinação, a fase I é caracterizada pela entrada de água devido à diferença de potencial matricial entre a semente e o meio externo. O potencial matricial é a capacidade que a semente tem de absorver água pelas paredes celulares e macromoléculas (polissacarídeos e proteínas) (BEWLEY; BLACK, 1994). É um processo físico que depende somente da ligação da água à matriz da semente, ocorrendo em qualquer material, morto ou vivo, que contém sítios de ligação ou de afinidade pela água (BORGHETTI, 2004).

Sendo assim, a viabilidade não interfere nesse processo, já que se trata de um fenômeno meramente físico, de maneira que até mesmo sementes mortas são capazes de absorver água nessa primeira fase. No caso das

sementes de jucá, essa fase foi concluída após 32 horas de embebição, caracterizando-se como a fase mais longa do processo. Dependendo da espécie, a duração da fase I é bastante variável. Em sementes de *Adenanthera pavonina*, Mantoan et al. (2012) informam que essa fase durou três horas; em sementes de *Copernicia hospita*, Oliveira; Bosco (2013) verificaram que foi de duas horas; já em *Jatropha curcas* L., Smiderle; Lima; Schuertz (2013) constataram que a duração dessa fase foi de 32 horas; em sementes de *Simira gardneriana* (OLIVEIRA et al., 2016) essa fase I foi concluída após 33 horas de embebição. Ao final da fase I as sementes de jucá se apresentaram com grau de umidade de 40%, o que é esperado para sementes cotiledonares, conforme enfatiza Guimarães; Dias; Loureiro (2008). Ainda segundo esse autor, ao final dessa fase sementes endospermáticas atingem grau de umidade de 25 a 30% e as sementes cotiledonares de 35 a 40%.

A fase II teve duração bem mais curta se comparada à fase I. No entanto, se for considerado o ganho de água no espaço de tempo, a fase I apresentou maior velocidade de absorção de água que a fase II, já que as sementes elevaram seu grau de umidade de 10% para 41% em 32 horas. Enquanto que na fase II, as sementes passaram de 41% de grau de umidade para 54% durante 20 horas. Dessa maneira, é possível afirmar que, embora a fase II, em termos absolutos tenha se completado mais rapidamente, houve desaceleração no ganho de água em relação à fase I. Isso pode ser explicado pelo fato de a semente ter absorvido a maior parte da água que necessitava durante a fase I, não sendo necessário, portanto, ganho tão considerável durante a fase II. Por esse motivo esta se completou mais rapidamente, culminando com a emissão da radícula, evento este, que deu início à fase III.

A fase III inicia-se a partir do momento em que a radícula rompe o tegumento e é lançada para o meio externo. Essa emissão da radícula ocorre devido às sucessivas mitoses (divisões celulares) do tecido meristemático, as

quais ocasionam o crescimento do eixo embrionário. Nessa fase, é imprescindível a presença de água, já que a semente encontra-se em intenso processo de divisão mitótica e esse evento é extremamente dependente de água. Sementes inviáveis e dormentes não conseguem atingir esta fase (BEWLEY; BLACK, 1994). Como as sementes de jucá apresentam dormência tegumentar, apenas as sementes escarificadas conseguiram emitir radícula, o que já era esperado, tendo em vista que as sementes não escarificadas permaneceram com o teor de água praticamente constante (Figura 2).

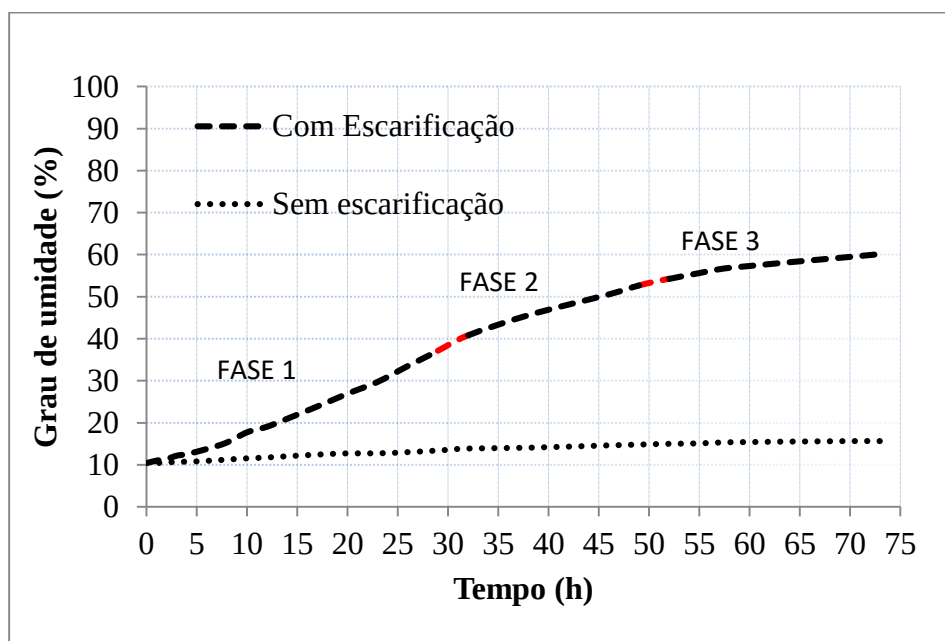


Figura 2. Absorção de água em sementes de jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) com e sem escarificação.

3.2 Resultados da fase de preparo (exposição dos tecidos)

As sementes com tegumento não obtiveram coloração adequada, independentemente da concentração (Figura 3). A concentração de 0,025% de sal de tetrazólio não coloriu as sementes, provavelmente, devido a baixa concentração do sal, considerado insuficiente para reação deste com os tecidos vivos das sementes. Para a concentração de 0,1% houve coloração fraca e em apenas alguns pontos da semente, não sendo possível estimar a viabilidade. No tocante a concentração de 1%, esta proporcionou coloração mas de maneira desuniforme, o que foi atribuído à barreira imposta pela presença do tegumento, que mesmo com a solução na maior concentração, não conseguiu penetrar em toda extensão da semente. Isso foi verificado de forma mais expressiva nas menores concentrações (0,025% e 0,1%), em que a barreira imposta pelo tegumento aliada às baixas concentrações dificultaram a penetração do sal e consequentemente a coloração.

Para as sementes com corte longitudinal também não houve coloração adequada em nenhuma das concentrações (Figura 4). Nas concentrações de 0,025 e 0,1%, as sementes apresentaram coloração excessiva no eixo embrionário e permaneceram sem coloração nas demais partes. Essa coloração excessiva verificada no eixo embrionário ocorreu, provavelmente, devido ao dano ocasionado pelo corte durante o preparo das sementes, o que estimulou a respiração de forma mais intensa naquela região, provocando, portanto, a reação com o sal de tetrazólio, mesmo em baixa concentração. Nesse tipo de procedimento a concentração de 1% foi excessiva, provocando coloração muito forte em toda extensão da semente.

A retirada do tegumento da semente de jucá foi o procedimento que mais facilitou a penetração do sal de tetrazólio (Figura 5). Para a concentração de 0,025%, embora tenha colorido os tecidos, ocorreu de maneira fraca e desuniforme, provavelmente, devido ser bastante baixa. Já, a concentração de 0,1% proporcionou resultado mais satisfatório, pois as sementes resultaram

em tonalidade rosada em todas as partes e de maneira uniforme. E como ocorreu no corte longitudinal, a concentração de 1% provocou coloração excessiva em toda a semente devido ser bastante alta.

Para algumas espécies, o corte longitudinal é uma forma de procedimento eficiente para o teste de tetrazólio. Isso foi verificado em sementes de *Cordia trichotoma* (MENDONÇA; RAMOS; PAULA, 2001); *Sebastiania commersoniana* (SANTOS et al., 2006); *Jatropha elliptica* (AÑEZ et al., 2007) e *Ceiba speciosa* (LAZAROTTO et al., 2011). Já para outras espécies, assim como observado em sementes de jucá, a retirada do tegumento mostrou-se mais satisfatória, inclusive para outras florestais da família Fabaceae, como: *Gleditschia amorphoides* (FOGAÇA et al., 2006); *Caesalpinia echinata* (LAMARCA; LEDUC; BARBEDO, 2009); *Amburana cearenses* (GUEDES et al., 2010); *Leucaena leucocephala* (COSTA; SANTOS, 2010); *Piptadenia moniliformis* (AZERÊDO; PAULA; VALERI, 2011) e *Enterolobium contortisiliquum* (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014).

A definição correta de procedimentos para exposição dos tecidos das sementes são fundamentais, visto que estes interferem na coloração adequada das sementes e consequentemente na interpretação dos resultados de viabilidade.



Figura 3. Sementes de jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) submetidas às concentrações de 0,025 (A), 0,1 (B) e 1% (C) do sal de tetrazólio com a presença do tegumento.



Figura 4. Sementes de jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) submetidas às concentrações de 0,025 (A), 0,1 (B) e 1% (C) do sal de tetrazólio por meio de corte longitudinal.



Figura 5. Sementes de jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) submetidas às concentrações de 0,025 (A), 0,1 (B) e 1% (C) do sal de tetrazólio por meio da retirada do tegumento.

4. CONCLUSÃO

Para a aplicação do teste de tetrazólio em sementes de jucá deve-se realizar previamente a escarificação das sementes com lixa 80, seguida do pré-umedecimento entre papel toalha por 42 horas, a 25 °C e após isso a retirada do tegumento.

REFERÊNCIAS

- AÑEZ, L. M. M.; COELHO, M. F. B.; ALBUQUERQUE, M. C. F.; MENDONÇA, E. A. F.; DOMBROSKI, J. L. D. Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 82-88, 2007.
- AZERÊDO, 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, 2011.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BHÉRING, M. C.; SILVA, R. F.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, D. N. F. S.; PENA, M. F. **Avaliação da viabilidade e do vigor das sementes de feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio**. Viçosa: UFV, 1996. 27 p.
- BORGHETTI, F. Dormência embrionária. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artimed, 2004, p. 109-123.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Coordenação Geral de Apoio Laboratorial. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: ACS, 2009. 395 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Coordenação Geral de Apoio Laboratorial. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Brasília, DF: ACGL, 2013. 97 p.
- CARVALHO, P. E. R. *Caesalpinia leiostachya* (Benth) Ducke. In: CARVALHO, P. E. R. (Ed.). **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: CNPF/EMBRAPA, 1994. p. 118-122.
- 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, 2010.
- 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.
- FOGAÇA, C. A.; MALAVASI, M. M.; ZUCARELI, C.; MALAVASI, U. C. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpiniaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 101-107, 2006.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; VIANA, J. S.; SILVA, K. B.; GOMES, M. S. S. 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, 2010.

GUIMARÃES, M. A.; DIAS, D. C. F. S.; LOUREIRO, M. E. Hidratação de sementes. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Londrina, v. 2, n. 1, p. 31-39, 2008.

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, 2009.

LAZAROTTO, M.; PIVETA, G.; MUNIZ, M. F. B.; REINIGER, L. R. S. Adequação do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Ceiba speciosa*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1243-1250, 2011.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 4ªed. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2002. 368 p.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D&Z. Computação Gráfica, 2004. 413 p.

MANTOAN, P.; LEAL, T. S.; PESSA, H. I.; MARTELINE, M. A.; MORAES, C. P. Escarificação mecânica e química na superação de dormência de *Adenanthera pavonina* L. (Fabaceae: Mimosoideae). **Scientia Plena**, Aracaju, v. 8, n. 5 p. 1-8, 2012.

MENDONÇA, E. A. F.; RAMOS, N. P.; PAULA, R. C. Viabilidade de sementes de *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudl (louro-pardo) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 64-71, 2001.

NERY, M. C.; CARVALHO, M. L. M.; OLIVEIRA, L. M. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 365-372, 2007.

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.

OLIVEIRA, A. B.; BOSCO, M. R. O. Biometria, determinação da curva de absorção de água em sementes e emergência inicial de plântulas de *Copernicia hospita* Martius. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Belo Horizonte, v. 8, n. 1, p. 66-74, 2013.

OLIVEIRA, F. N.; TORRES, S. B.; NOGUEIRA, N. W.; FREITAS, R. M. O. 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, 2016.

SANTANA, J. A. S.; FERREIRA, L. S.; COELHO, R. R. P.; VIEIRA, F. A.; PACHECO, M. V. Tecnologias de baixo custo para superação de dormência em sementes de *Caesalpinia ferrea* var. *ferrea* Mart. ex. Tul. (pau-ferro). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 6, n. 1, p. 225-229, 2011.

SANTOS, S. R. G.; PAULA, R. C.; FOGAÇA, C. A.; MÔRO, F. V.; COSTA, R. S. Viabilidade de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith e Downs (branquilho) – Euphorbiaceae – pelo teste de tetrazólio. **Científica**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 39-45, 2006.

SMIDERLE, O. J.; LIMA, J. M. E.; SCHUERTZ, P. P. P. Curva de absorção de água em sementes de *Jatropha curcas* L. com dois tamanhos. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 7, n. 2, p. 203-208, 2013.

ZUCARELI, C.; MALAVASI, M. M.; FOGAÇA, C. A.; MALAVASI, U. C. Preparo e coloração de sementes de farinha-seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Burr.) para o teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 186-191, 2001.

CAPÍTULO III

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE JUCÁ (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) PELO TESTE DE TETRAZÓLIO

RESUMO

CARVALHO, Sara Monaliza Costa. **Avaliação da viabilidade de sementes de jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) pelo teste de tetrazólio** 2016. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2016.

A utilização de testes rápidos tem se tornado imprescindível para a avaliação do potencial fisiológico de sementes e nesse contexto, o teste de tetrazólio tem despertado atenção dos pesquisadores, produtores e tecnologistas de sementes. Assim, essa pesquisa teve como objetivo estabelecer procedimento adequado para a condução do teste de tetrazólio em sementes de *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*. Para isso, testou-se três diferentes concentrações da solução de tetrazólio (0,05; 0,075 e 0,1%) e três períodos de coloração (1, 3 e 6 horas) sob temperaturas de 35 e 40 °C, totalizando nove combinações para cada temperatura. Além disso, simultaneamente, as sementes foram avaliadas pelo teste de germinação, cujo resultado foi comparado com a porcentagem de sementes viáveis, obtidas pelo teste de tetrazólio. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 3 + 1 (três concentrações da solução x três períodos de coloração + uma testemunha = teste de germinação), sob temperaturas de 35 °C e 40 °C, em quatro repetições de 25 sementes para cada combinação. As médias de sementes viáveis obtidas pelo teste de tetrazólio foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). E, a comparação entre as médias de sementes viáveis com teste de germinação foi realizada pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). Os resultados mostraram que quatro combinações para cada uma das temperaturas testadas não diferiram estatisticamente do teste de germinação. No entanto, recomenda-se que a avaliação da qualidade de sementes de jucá pelo do teste de tetrazólio seja realizada na concentração de 0,05% por três horas de coloração, sob 35 °C ou 40 °C, tendo em vista o menor período de tempo de coloração e menor gasto com o reagente.

Palavras-chave: viabilidade, tetrazólio, jucá

ABSTRACT

CARVALHO, SaraMonaliza Costa. **Assessing the feasibility of jucá seeds *Libidibia ferrea* (Mart. exTul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) by tetrazolium test** 2016. 70 f. Thesis (MS in Agronomy: Plant Science) - Federal Rural University of the Semi-Arid (UFERSA), Mossoro-RN, 2016.

The use of fast testing has become essential for the evaluation of the physiological potential of seeds and in this context; the tetrazolium test has attracted the attention of researchers, producers, and technologists seeds. Thus, this research aimed to establish proper procedure for conducting the tetrazolium test in *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea* seeds. For this, three different concentrations of tetrazolium solution have been tested (0.05, 0.075 and 0.1%) and three coloring periods (1, 3 and 6 hours) at the temperatures between 35 and 40 ° C, a total of nine combinations for each temperature. Also, simultaneously, the seeds were evaluated by germination test, and the result was compared with the percentage of viable seeds, obtained by the tetrazolium test. The experimental design was completely randomized in a factorial 3 x 3 + 1 (three concentrations of the solution x three periods of color + a witness = germination test), at temperatures of 35 ° C and 40 ° C, with four replications of 25 seeds for each combination. The averages of viable seeds obtained by the tetrazolium test were compared by the Tukey test ($p \leq 0.05$). And the comparison between the averages of viable seeds with germination test was carried out by Dunnett test ($p \leq 0.05$). The results showed that four combinations for each of the tested temperatures did not differ statistically from the germination test. However, it is recommended that the evaluation of the quality of the jucá seeds by the tetrazolium test should be carried out at a coloring concentration of 0.05% for three hours, under 35 ° C or 40 ° C, considering the shorter period of coloring time and lower expenses with the reagent.

Keywords: viability, tetrazolium, jucá

1. INTRODUÇÃO

Libidibia ferrea (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*, conhecida por jucá ou pau-ferro, é uma espécie nativa brasileira, pertencente à família Fabaceae e considerada de uso múltiplo por seus atributos medicinal, madeireiro, paisagístico, forrageiro e, também, indicada para a recuperação de áreas degradadas. Como as sementes constituem a principal via reprodutiva dessa espécie, estas necessitam de atenção quanto ao aspecto qualidade. No entanto, a demora na obtenção do resultado do teste de germinação para algumas espécies, pode ser uma limitação, especialmente quando há necessidade de tomada de decisões na indústria de sementes. Nesse sentido, a utilização de testes rápidos tem se tornado ferramenta imprescindível para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes, e por isso tem merecido permanente atenção dos pesquisadores, tecnologistas e produtores (CUNHA; GOMES, 2015).

O teste de tetrazólio tem sido uma alternativa promissora na determinação da viabilidade e do vigor de sementes várias espécies florestais, devido à confiabilidade e rapidez dos resultados (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014). Esse teste se baseia na alteração da coloração dos tecidos vivos em presença da solução de sal de tetrazólio, o qual é reduzido pela atividade de enzimas desidrogenases envolvidas na atividade respiratória (FOGAÇA et al., 2011). Durante a respiração ocorre a liberação de íons de hidrogênio com os quais o sal 2, 3, 5 trifênil cloreto de tetrazólio, que é incolor e solúvel, reage e forma o trifênilformazan, o qual é estável, não difusível e de coloração avermelhada (LAZAROTTO et al., 2011).

Apesar do teste de tetrazólio não ser tão recente (desenvolvido por Lakon desde 1949), o seu uso ainda é limitado, o que pode ser atribuído à necessidade de desenvolvimento de procedimentos adequados para cada

espécie (REZENDE et al., 2015). Por esse motivo, pesquisas têm sido desenvolvidas na tentativa de definir metodologia adequada para diversas espécies florestais, conforme trabalhos realizados por Fogaça et al. (2006) com sucará (*Gleditschia amorphoides*); Pinto et al. (2008) com coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora*); Mendes, Bastos e Melo (2009) com corezeiro (*Parkia velutina*); Corte, Borges e Pereira (2010) com baraúna (*Melanoxylon brauna*); Fogaça et al. (2011) com *Copaifera langsdorffii* e *Schizolobium parahyba*; Lazarotto et al. (2011) com paineira (*Ceiba speciosa*); Azerêdo, Paula e Valeri (2011) com catanduva (*Piptadenia moniliformis*); Fava e Albuquerque (2013) com douradinha-do-campo (*Palicourea rigida*); Nogueira, Torres e Freitas (2014) com timbaúba (*Enterolobium contortisiliquum*); Kaiser et al. (2014) com (*Eugenia uniflora*); Gimenez, Ferreira e Cavariani (2014) com atemoia (*Annona cherimola*); Garlet, Souza e Delazeri (2015) com falso-barbatimão (*Cassia leptophylla*); Cunha e Gomes (2015) com mulungu (*Erythrina velutina*). Nesses trabalhos, além dos procedimentos que antecedem o teste, são testados períodos de coloração, diferentes concentrações da solução de tetrazólio e temperaturas de incubação, fatores que influenciam diretamente na uniformidade de coloração das sementes (BHERING; DIAS; BARROS, 2005).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi estabelecer a concentração e o tempo de coloração adequados para a avaliação da viabilidade de sementes de jucá pelo teste de tetrazólio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Ciências Vegetais (DCV) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), em Mossoró - RN nos meses de março a maio de 2015. As sementes foram cedidas pela Rede de Sementes da Caatinga da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), tendo sido os frutos coletadas em junho de 2012 no sítio Cacimba Nova, Conceição, PB (07° 33' 44" S, 38° 30' 32" W e 376 metros de altitude). Ao chegarem ao Laboratório de Análise de Sementes da UFERSA, estas foram acondicionadas em embalagem de saco plástico e armazenadas em câmara fria (17 °C e 50% de umidade relativa do ar) até o início da fase experimental.

A metodologia utilizada para o pré-umedecimento e exposição dos tecidos das sementes baseou-se nos resultados descritos no capítulo II. Assim, o pré-umedecimento foi feito em papel durante 42 horas à temperatura de 25 °C em *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D.). Depois desse período, as sementes foram cortadas com auxílio de bisturi, para a retirada do tegumento, colocadas em copos plásticos de 50 mL e acrescidas da solução de 2, 3, 5 trifetil cloreto de tetrazólio nas devidas concentrações.

Foram utilizadas três concentrações (0,05; 0,075 e 0,1%), três períodos (1, 3 e 6 horas) e duas temperaturas (35 °C e 40 °C). As temperaturas foram reguladas em estufa do tipo B.O.D. na ausência de luz. Para cada combinação, utilizou-se quatro subamostras de 25 sementes. Após cada período de coloração, a solução de tetrazólio foi drenada, as sementes lavadas em água corrente e acrescidas de água. Em seguida foram colocadas em geladeira até o momento da avaliação. Durante a avaliação, os dois cotilédones foram separados para permitir, também, a análise da estrutura interna da semente.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial $3 \times 3 + 1$ (três concentrações da solução x três períodos de coloração + uma testemunha = teste de germinação), sob temperaturas de 35 °C e 40 °C, em quatro repetições de 25 sementes para cada combinação. Os dados, quando submetidos a testes de normalidade e homogeneidade de variâncias apresentaram distribuição normal, não sendo necessário transformá-los.

As médias de sementes viáveis obtidas pelo teste de tetrazólio foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Já, a comparação entre as médias de sementes viáveis com teste de germinação (testemunha), foi realizada pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$), seguindo recomendações de Banzatto e Kronka (2006). As análises estatísticas foram realizadas pelo programa ASSISTAT 7.7 beta (SILVA; AZEVEDO, 2002).

A avaliação foi feita com o auxílio de lupas de mesa e as sementes classificadas em viáveis ou inviáveis de acordo com o padrão de coloração indicado por França-Neto; Kryzanowski; Costa (1998): rosa claro (tecido saudável); vermelho intenso (tecido em processo de deterioração) e sem coloração (tecido morto). As sementes foram avaliadas considerando-se não somente a coloração, mas o local, a intensidade e a extensão da coloração. Como sementes viáveis, foram as que apresentaram coloração rosa claro brilhante, tecidos com aspecto normal e firme; eixo embrionário com coloração vermelha intensa, porém, sem atingir o cilindro central; menos de 50% dos cotilédones descoloridos, cotilédones com regiões necrosadas, porém, sem afetar a região de ligação com o eixo embrionário. As inviáveis foram as que se apresentavam com mais de 50% dos cotilédones descoloridos, com coloração vermelha intensa ou necrosados; eixo embrionário com regiões descoloridas, vermelha intensa e/ou necrosada, atingindo o cilindro

central (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014). Os resultados foram expressos em porcentagens de sementes viáveis.

No intuito de obter um padrão de comparação dos resultados, realizou-se concomitantemente o teste de germinação, utilizando quatro subamostras de 25 sementes dispostas em caixas plásticas (*Gerbox*) contendo areia lavada, esterilizada e umedecida com 60% de sua capacidade de campo, a 30 °C (LIMA et al., 2006). A avaliação foi realizada vinte dias após a semeadura, sendo os dados expressos em porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2013).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da variância (Tabela 1) mostra que houve efeito significativo ao nível de 1% no teste F para a interação entre ambos os fatores sob temperaturas de 35 °C e 40 °C. Além disso, houve diferença significativa entre os resultados de viabilidade obtidos pelo teste de tetrazólio e o do teste de germinação (fatorial x testemunha), em ambas as temperaturas.

Tabela 1. Resumo da análise de variância de sementes viáveis de jucá (*Libidibia ferrea* Mart. ex Tul. L.P. Queiroz var. *ferrea*) obtido pelo teste de tetrazólio em diferentes concentrações e períodos de coloração, sob 35 e 40 °C, em comparação aos resultados do teste de germinação (testemunha).

Fontes de variação	Quadrado médio	
	35 °C	40 °C
Período (P)	4885,33**	6253,78**
Concentração (C)	2725,33**	1056,44**
Int P x C	1318,67**	813,78**
Fatorial x Testemunha	3097,60**	1724,84**
Tratamentos	2621,51**	2177,82**
Erro	28,27	35,07
Média	49,60	56,30
CV (%)	10,72	10,52

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Na avaliação da viabilidade de sementes de jucá pelo teste de tetrazólio foram estabelecidas as categorias viáveis e inviáveis (Figuras 1 e 2).

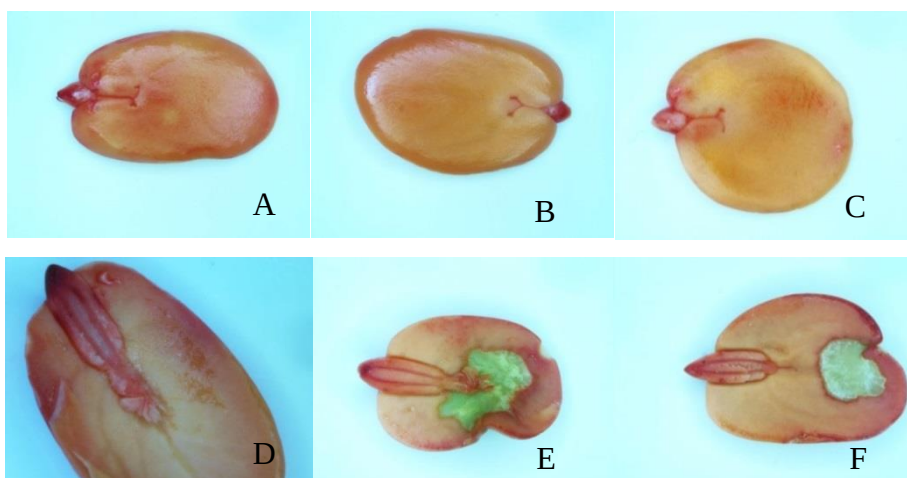


Figura 1. Sementes de jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) consideradas viáveis pelo teste de tetrazólio: sementes com coloração rosa claro brilhante, tecidos com aspecto normal e firme (A, B e C); eixo embrionário com coloração vermelha intensa, não atingindo o cilindro central (D); menos de 50% dos cotilédones descoloridos, cotilédones com regiões necrosadas mas não afetando a região de ligação com o eixo embrionário (E e F).

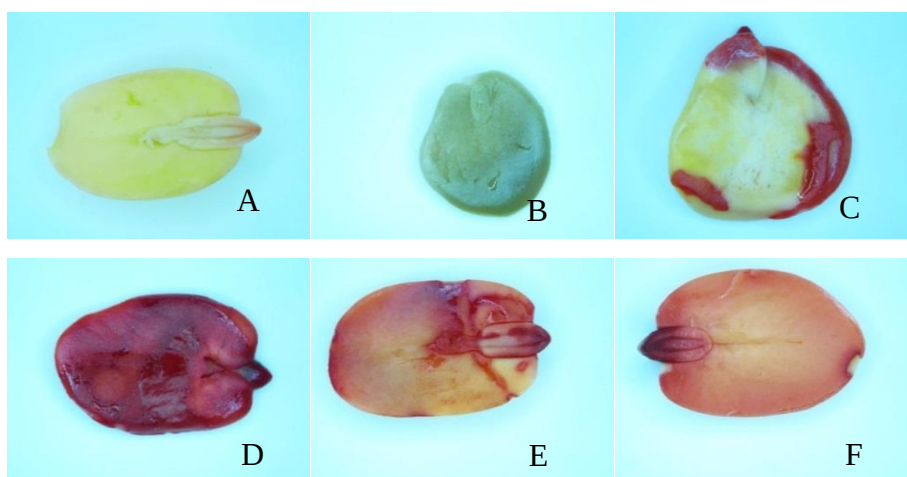


Figura 2. Sementes de jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) consideradas inviáveis pelo teste de tetrazólio: sementes totalmente descoloridas (A e B); com mais de 50% dos cotilédones descoloridos (C); com coloração vermelha intensa em todas as partes (D); eixo embrionário com coloração vermelho intenso atingindo o cilindro central (E e F).

Os resultados de viabilidade de sementes de jucá, referentes às combinações de períodos e concentrações sob temperatura de 35 °C indicam que o período de uma hora apresentou baixas médias de viabilidade, independentemente da concentração da solução (Tabela 2). No período de seis horas, com exceção da concentração de 0,075%, as demais, também, apresentaram estimativas de baixa viabilidade, quando comparadas com o resultado do teste de germinação. Entretanto, o período de três horas, para todas as concentrações, proporcionou resultados semelhantes ao obtido no teste de germinação. Tais resultados demonstram que o tempo de uma hora foi insuficiente para a coloração das sementes, não permitindo, portanto, coloração adequada. Em contrapartida, o tempo de seis horas (exceto para a concentração de 0,075%) mostrou-se excessivo para a coloração das sementes, cujos tecidos coloriram de forma muito intensa, dificultando a interpretação dos resultados. Nogueira, Torres e Freitas (2014), trabalhando com sementes de timbaúba (*Enterolobium contortisiliquum*), espécie pertencente, também, à família Fabaceae, verificaram resultados semelhantes aos encontrados nesta pesquisa.

Tabela 2. Médias de viabilidade de sementes de jucá (*Libidibia ferrea* Mart. ex Tul. L.P. Queiroz var. *ferrea*) a partir do teste de tetrazólio conduzido em diferentes concentrações e períodos de coloração, sob temperatura de 35 °C.

Períodos	Concentrações (%)		
	0,050*	0,075	0,100
1	23 cBy	38 bAy	31bABy
3	71 aAx	74 aAx	67 aAx
6	34 bBy	78 aAx	8 cCy
Germinação (%)	76x		

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

germinação (testemunha – teste de germinação) e viabilidade obtida no teste de tetrazólio não diferem significativamente entre si pelo teste Dunnett a 5% de probabilidade.

Sob a temperatura de 40 °C, semelhante ao ocorrido a 35 °C, o período de uma hora mostrou-se insuficiente para estimar a viabilidade das sementes de jucá (Tabela 3). No entanto, para esse período, verificou-se aumento da viabilidade em relação ao obtido para a temperatura de 35 °C. No período de seis horas, exceto para a concentração de 0,05%, os resultados foram estatisticamente diferentes do teste de germinação. Também, nessa temperatura, o período de três horas foi o que proporcionou resultados satisfatórios, tendo ocorrido em todas as concentrações, médias de viabilidade que não diferiram da testemunha (teste de germinação).

Analizando os resultados de viabilidade de sementes de jucá em relação às concentrações, percebe-se que sob temperatura de 35 °C, a concentração de 0,075% proporcionou resultados semelhantes ao teste de germinação; Já sob 40 °C foi a concentração de 0,05% que obteve resultados semelhantes ao verificado no teste de germinação.

Para ambas as temperaturas testadas, as combinações de períodos e concentrações que diferiram da testemunha podem ser justificadas pelo não desenvolvimento de coloração adequada nas diversas combinações, o que induziu à classificação de sementes viáveis na categoria de inviáveis, dessa forma, subestimando o potencial fisiológico das sementes.

Tabela 3. Médias de viabilidade de sementes de jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*) a partir do teste de tetrazólio conduzido em diferentes concentrações e períodos de coloração, sob temperatura de 40 °C.

Períodos	Concentrações (%)		
	0,050*	0,075	0,100
1	41 cAy	47 bAy	42 bAy
3	84 aAx	81 aAx	76 aAx
6	67 bAx	31 cBy	18 cCy
Germinação (%)	76x		

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (A, B, C) na linha e minúscula (a, b, c) na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Médias seguidas por uma mesma letra (x, y), entre germinação (testemunha – teste de germinação) e viabilidade obtida no teste de tetrazólio não diferem significativamente entre si pelo teste Dunnett a 5% de probabilidade.

Embora os resultados de viabilidade de sementes de jucá tenham demonstrado a possibilidade de realização do teste de tetrazólio em diferentes combinações (período x concentração) tanto a 35 °C como a 40 °C , a escolha do procedimento mais adequado deve levar em consideração o menor tempo gasto para a coloração, como também, o menor custo com o reagente. Além disso, as menores concentrações são mais indicadas por possibilitarem melhor visualização dos distúrbios de coloração e identificação dos diferentes tipos de injúrias (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANCA-NETO, 1999).

Portanto, pode-se recomendar o teste de tetrazólio na concentração de 0,05% por três horas sob temperaturas de 35 °C ou 40 °C para avaliação da viabilidade de sementes de jucá. Entre as recomendações contidas nas RAS (BRASIL, 2009) para a condução do teste tetrazólio em sementes, não há indicações de baixas concentrações para nenhuma das espécies florestais descritas no manual. Entretanto, algumas pesquisas mais recentes têm demonstrado eficiência no uso de concentrações mais baixas, como a que foi

verificada para esta pesquisa. Resultados evidenciando eficiência da utilização da concentração de 0,05% podem ser encontrados nos trabalhos de Fogaça (2003) com angico-vermelho (*Parapiptadenia rigida*); Lamarca, Leduc e Barbedo (2009) com pau-brasil (*Caesalpinia echinata*); Guedes *et al.* (2010) com amburana (*Amburana cearenses*); Lazarotto *et al.* (2011) com paineira (*Ceiba speciosa*) e Abbade e Takaki (2014) com de ipê-branco (*Tabebuia roseoalba*).

4. CONCLUSÃO

A viabilidade de sementes de jucá pode ser avaliada através do teste de tetrazólio utilizando a concentração de 0,05% por três horas de coloração, sob as temperaturas de 35 °C ou 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, 2014.
- AZERÊDO, 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, 2011.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2006. 237 p.
- 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 Sementes**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 176-182, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA, 2013. 98 p.
- 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* Schot. **Cerne**, Lavras, v. 16, n. 3, p. 415-421, 2010.
- 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, 2015.
- FAVA, C. L. F.; ALBUQUERQUE, M. C. F. Viabilidade e emergência de plântulas de *Palicourea rigida* Kunth em função de diferentes métodos para superação de dormência. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 2620-2629, 2013.
- FOGAÇA, C. A. **Padronização do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de três espécies florestais**. 2003. 53 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.
- FOGAÇA, C. A.; MALAVASI, M. M.; ZUCARELI, C.; MALAVASI, U. C. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 101-107, 2006.
- FOGAÇA, C. A.; KROHN, N. G.; SOUZA, M. A.; PAULA, R. C. Teste de tetrazólio em sementes de *Copaifera langsdorffii* e *Schizolobium parahyba* **Floresta**, Curitiba, v. 41, n. 4, p. 895 - 904, 2011.
- FRANÇA NETO, J. B.; KRYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA/ CNPSO, 1998. 72 p.

GARLET, J.; SOUZA, G. F.; DELAZERI, P. Teste de tetrazólio em sementes de *Cassia leptophylla*. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11 n. 21, p. 1800-1808, 2015.

GIMENEZ, J. I.; FERREIRA, G.; CAVARIANI, C. Tetrazolium test for assessment of seed viability of atemoya (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.). **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 36, n. 3, p. 357-361, 2014.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; VIANA, J. S.; SILVA, K. B.; GOMES, M. S. S. Metodologia para teste de tetrazólio em sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 120-126, 2010.

KAISER, D. K.; FREITAS, L. C. N.; BIRON, R. P.; SIMONATO, S. C.; BORTOLINI, M. F. Adjustment of the methodology of the tetrazolium test for estimating viability of *Eugenia uniflora* L. seeds during storage. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 36, n. 3, p. 344-351, 2014.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANCA-NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218 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, 2009.

LAZAROTTO, M.; PIVETA, G.; MUNIZ, M. F. B.; REINIGER, L. R. S. Adequação do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Ceiba speciosa*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1243-1250, 2011.

LIMA, J. D.; ALMEIDA, C. C.; DANTAS, V. A. V.; SILVA, B. M. S.; MORAES, W. S. Efeito da temperatura e do substrato na germinação de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. (Leguminosae, Caesalpinoideae). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 4, p. 513-518, 2006.

MENDES, A. M. S.; BASTOS, A. A.; MELO, M. G. G. Padronização do teste de tetrazólio em sementes de *Parkia velutina* Benoist (Leguminosae-Mimosoideae). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 39, n. 4, p. 823-828, 2009.

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.; BRANCALION, P. H. S.; NOVENBRE, A. D. L. C.; CICERO, S. M. Avaliação da viabilidade de sementes de coração-de-negro (*Poecilanthe*

parviflora Benth. - Fabaceae-Faboideae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 208-214, 2008.

REZENDE, R. G.; JESUS, L. L.; NERY, M. C.; ROCHA, A. S.; CRUZ, S. M.; ANDRADE, P. C. R. Teste de tetrazólio em sementes de crambe. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 4, p. 2539-2544, 2015.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 71-78, 2002.