

ANTONIA ADAILHA TORRES SOUZA

**TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE
DE SEMENTES DE QUIABO**

MOSSORÓ-RN
2016

ANTONIA ADAILHA TORRES SOUZA

**TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE
DE SEMENTES DE QUIABO**

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

COORIENTADORA:
Profª. D. Sc. CLARISSE PEREIRA BENEDITO
Profª. D.Sc. NARJARA WALESSA NOGUEIRA

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 tornar-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.

S729t Souza, Antonia Adailha Torres .
Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de
sementes de quiabo / Antonia Adailha Torres Souza. -
2016.
74 f. : il.

Orientador: D. Sc. Salvador Barros Torres .
Coorientadora: D. Sc. Clarisse Pereira Benedito.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em ,
2016.

1. Abelmoschus esculentus (L.) Moench. 2. testes
rápidos. 3. tetrazólio. I. Torres , D. Sc. Salvador
Barros, orient. II. Benedito, D. Sc. Clarisse
Pereira, co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

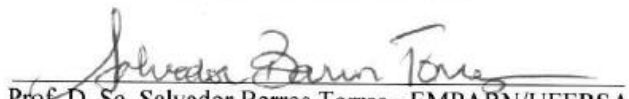
ANTONIA ADAILHA TORRES SOUZA

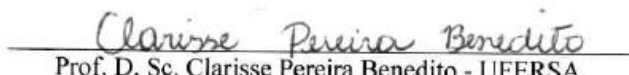
**TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE
SEMENTES DE QUIABO**

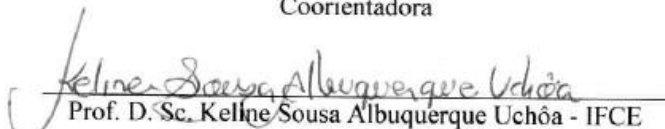
Dissertação apresentada ao
Mestrado em Fitotecnia do
Programa de Pós-Graduação
em Fitotecnia da Universidade
Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção
do título de Mestre em
Agronomia: Fitotecnia.

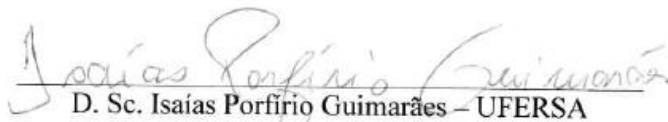
Defendida em: 18 / 02 / 2016.

BANCA EXAMINADORA


Prof. D. Sc. Salvador Barros Torres - EMPARN/UFERSA
Orientador


Prof. D. Sc. Clarisse Pereira Benedito - UFERSA
Coorientadora


Prof. D. Sc. Kellne Sousa Albuquerque Uchôa - IFCE
Membro Examinador


D. Sc. Isaias Porfirio Guimarães - UFERSA
Membro Examinador

*À minha família pelo amor,
incentivo e apoio. Sem vocês,
nada disso seria possível.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela sua grandeza, bondade e sabedoria, me dando força interior para superar as dificuldades, mostrando o caminho nas horas incertas e suprimindo todas as minhas necessidades.

Aos meus pais, pelo exemplo de caráter que me ensinou a nunca desistir e buscar ser sempre uma pessoa melhor.

À minha irmã, Halainne Torres, por estar sempre apoiando e incentivando as minhas decisões.

Ao meu noivo, amigo e companheiro, Paulo Davi, pelo carinho, apoio, paciência nos meus momentos difíceis e por sempre estar ao meu lado, o que foi imprescindível nessa caminhada.

A todos os meus familiares e amigos, que torceram por mim e me apoiaram, mesmo que indiretamente, acompanhando a expectativa para a finalização deste trabalho.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, pela oportunidade de realizar os cursos de graduação e mestrado.

Ao professor Salvador Barros Torres, pela orientação, conhecimento transmitido e as valiosas contribuições para o trabalho.

À professora Clarisse Pereira Bendito, pelas orientações e sugestões durante a construção desta dissertação.

Agradeço ao professor Francisco de Assis de Oliveira (Thikão), pela amizade, profissionalismo e humildade. Continue assim, essa pessoa honesta e de extrema competência.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela contribuição à minha formação acadêmica.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e incentivo à pesquisa.

Aos membros da banca examinadora, pelas sugestões para este trabalho.

Agradeço a todos do Laboratório de Análise de Sementes (LAS), aos funcionários, acadêmicos, bolsistas de iniciação científica, mestrandos e doutorandos, pela ajuda na condução do experimento e amizade.

Às amigas Lilia Souza, Sara Monalisa, Emanuela Paiva, Narjara Walesa, Kleane Targino e Nadjamara Bandeira. Não sei nem como agradecer a ajuda de vocês. Obrigada pelo esforço, carinho e amizade.

A todas as pessoas que, em algum momento, cruzaram pela minha vida e contribuíram de alguma forma, mesmo sem saber, para que essa jornada se tornasse mais leve.

Poderia ter o dom de anunciar mensagens de Deus, ter todo o conhecimento, entender todos os segredos e ter tanta fé, que até poderia tirar as montanhas do seu lugar, mas, se não tivesse amor, eu não seria nada.

1 Coríntios 13:2

RESUMO

SOUZA, Antônia Adailha Torres. **Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de quiabo**. 2016. 74f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2016.

O objetivo desse trabalho foi estudar a eficiência do teste de tetrazólio para verificar a viabilidade de sementes de quiabo. No primeiro experimento, testaram-se métodos de pré-condicionamento e preparo. Para superar a dureza tegumentar, foram avaliados três métodos visando à melhor forma de pré-condicionamento: ácido sulfúrico (96%) por 1, 3 e 6 minutos; água quente (60 °C) por 3, 6 e 10 minutos e álcool etílico (98%) durante 30, 60 e 90 minutos, utilizando quatro repetições de 25 sementes. Posteriormente, as sementes foram imersas em água a 25 °C por 18 horas e, em seguida, expostas à solução de tetrazólio (com e sem corte) nas concentrações de 0,025 e 1% durante 30, 60, 90 e 120 minutos em câmara de germinação. As sementes foram classificadas em quatro classes: sementes descoloridas, coloração fraca, satisfatória e excessiva. O segundo experimento foi realizado com base nos resultados do experimento anterior. Para isso, quatro lotes de sementes de quiabo foram submetidos ao pré-condicionamento de imersão em álcool por 60 minutos seguido de 18 horas de embebição direta em água a 25 °C. Em seguida, as sementes foram seccionadas longitudinalmente, imersas em soluções de 0,025; 0,050 e 0,075% por 60, 90 e 120 minutos e mantidas em câmara de germinação, a 35 e 40 °C. Após esse período, as sementes foram classificadas com base na coloração (vermelho brilhante rosa ou vermelho carmim forte). Paralelamente, foi instalado o teste de germinação, cujos resultados foram empregados como referência para o teste de tetrazólio. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 3 + 1, sendo três concentrações do sal de tetrazólio, três períodos de imersão e a testemunha. As médias de sementes viáveis do teste de tetrazólio foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância. Já a comparação entre as médias do teste de tetrazólio e o teste de germinação foi feita pelo teste de Dunnett a 5% de significância. Para a fase de pré-condicionamento, recomenda-se a imersão das sementes em álcool por 60 minutos, seguida de 18 horas de embebição em água destilada a 25 °C. A realização do corte facilitou a penetração da solução de tetrazólio. O teste de tetrazólio é eficiente para estimar a viabilidade em sementes de quiabo, na concentração de 0,075% sob temperatura de 35°C por 90 minutos.

Palavras-chave: *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench; testes rápidos; tetrazólio.

ABSTRACT

SOUZA, Antonia Torres Adailha. **Tetrazolium test methodology for assessment of okra seeds' quality**. 2016 74p. Thesis (MS in Agronomy: Plant Science) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2016.

The objective of this work was to study the tetrazolium test efficiency to verify the viability of okra seeds. The first experiment tested whether pre-conditioning and preparation methods. To overcome cutaneous hardness, we evaluated three methods to the best way of preconditioning: sulfuric acid (96%) for 1, 3 and 6 minutes; warm water (60 ° C) for 3, 6 and 10 minutes and ethyl alcohol (98%) for 30, 60 and 90 minutes. Four replications of 25 seeds were used, then the seeds were immersed in water at 25 ° C for 18 hours and then exposed to tetrazolium solution (with or without cut) at concentrations of 0.025 to 0.1% for 30, 60, 90 and 120 minutes in a germination chamber. The seeds were classified in four classes: discolored seed, poor coloring, satisfactory and excessive. The second experiment was carried out based on the results of the previous experiment. For this, four lots of okra seeds were subjected to preconditioning soaking in alcohol for 60 minutes followed by 18 hours of direct immersion in water at 25 ° C. Then, the seeds were cut longitudinally, immersed in 0.025 solutions; 0.050 and 0.075% for 60, 90 and 120 minutes and maintained in a growth chamber at 35 and 40° C. After this period, the seeds were classified with basis on the color (bright red pink or strong red carmine). At the same time, the germination test was installed, and the results were used as reference to the tetrazolium test. The experiment was conducted in a completely randomized design, in a factorial 3 x 3 + 1, three concentrations of the tetrazolium salt, three periods of immersion and the witness. The average of viable seeds tetrazolium test were compared by Tukey test at 5% significance level. The comparison between the means of the tetrazolium test and the germination test was taken by Dunnett test at 5% significance level. For preconditioning phase, it is recommended soaking seeds in alcohol for 60 minutes followed by 18 hours of immersion in distilled water at 25 ° C. The completion of the facilitated penetration of the cutting tetrazolium solution. For staining, we must use the concentration of 0.025% in 90 minutes time. The tetrazolium test is effective to estimate the viability of okra seeds in tetrazolium solution of 0.075% for 90 minutes.

Keywords: *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench; Rapid tests; tetrazolium.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1	Teor de água inicial de lotes de sementes de quiabo [<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47.....	42
Tabela 2	Porcentagem de sementes duras de sementes de quiabo [<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, após diferentes pré-tratamentos seguidos de embebição por 18 horas.....	45
Tabela 3	Padrão de coloração de sementes de quiabo [<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, cortadas longitudinalmente e expostas à solução de tetrazólio em diferentes tempos e concentrações.....	47

CAPÍTULO III

Tabela 1	Resumo da análise de variância em sementes viáveis de quiabo [<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, obtida do teste de tetrazólio em diferentes concentrações e períodos de coloração, a 35 °C, em comparação aos resultados do teste de germinação (testemunha).....	62
Tabela 2	Médias de viabilidade de sementes de quiabo [<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench] a partir do teste de tetrazólio conduzido em diferentes concentrações e períodos de coloração sob temperatura de 35 °C.....	63
Tabela 3	Resumo da análise de variância em sementes viáveis de quiabo [<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, obtida do teste de tetrazólio em diferentes concentrações e períodos de coloração, a 40 °C, em comparação aos resultados do teste de germinação (testemunha).....	66
Tabela 4	Médias de viabilidade de sementes de quiabo [<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, a partir do teste de tetrazólio conduzido em diferentes concentrações e períodos de coloração sob temperatura de 40 °C.....	67

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 1	Procedimentos de pré-condicionamento das sementes de quiabo, cultivar Santa Cruz 47, para o teste de tetrazólio. Ácido sulfúrico (96%) (A); água quente (60 °C) (B) álcool etílico (98%) (C).....	39
Figura 2	Procedimentos no preparo de sementes de quiabo, cultivar Santa Cruz 47 para o teste de tetrazólio. Corte longitudinal no sentido do comprimento (A); semente cortada (B); sementes imersas na solução de tetrazólio (C)	39
Figura 3	Curva de embebição de água pelas sementes de quiabo [<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, sob temperatura de 25 °C.....	43
Figura 4	Classificação da coloração semente de quiabo [<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47: semente descolorida (A); semente com coloração fraca (B); semente com coloração satisfatória (C); semente com coloração excessiva (D).....	49

CAPÍTULO III

Figura 1	Sementes de quiabo [<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, viáveis pelo teste de tetrazólio.....	70
Figura 2	Sementes de quiabo [<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, inviáveis pelo teste de tetrazólio.....	70

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL

TEÓRICO.....	14
1. INTRODUÇÃO GERAL	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA.....	17
2.2 QUALIDADE FISIOLÓGICA DAS SEMENTES.....	19
2.3 TESTE DE TETRAZÓLIO	21
REFERÊNCIAS.....	26

CAPÍTULO II - PREPARO DAS SEMENTES DE QUIABO PARA O TESTE DE TETRAZÓLIO.....

RESUMO.....	32
ABSTRACT.....	34
1. INTRODUÇÃO	35
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4. CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

CAPÍTULO III - VIABILIDADE DE SEMENTES DE QUIABO AVALIADA PELO TESTE DE TETRAZÓLIO.....

RESUMO.....	54
ABSTRACT.....	55
1. INTRODUÇÃO	56
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	59
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
4. CONCLUSÃO.....	71
REFERÊNCIAS.....	72

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO

1. INTRODUÇÃO GERAL

O quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench] é uma hortaliça-fruto, família *Malvaceae* (JARRET; WANG; LEVY, 2011), bastante produzida e consumida em todo o território brasileiro. Embora não esteja inserida entre as hortaliças de maior importância econômica, a área com seu cultivo tem aumentado continuamente, sendo considerada uma importante alternativa para a agricultura familiar no país (JESUS et al., 2011). Essa cultura ainda não expressa seu potencial máximo de produção em decorrência do baixo nível de tecnologia adotado pelos produtores e, também, por frequentemente apresentar o fenômeno da dureza em suas sementes. Tudo isso contribui para a germinação lenta e desuniforme, principalmente quando as sementes são de baixa qualidade fisiológica.

O único teste padronizado e oficializado para avaliação da qualidade da qualidade fisiológica de sementes de quiabo é o de germinação. Porém, muitas vezes, por ser conduzido em condições controladas, não é possível conhecer a real situação do lote de sementes. Além disso, para essa espécie, a duração desse teste é de 21 dias (BRASIL, 2009), tempo considerado longo para tomada de decisão quanto à destinação do lote, por parte dos produtores. Neste sentido, são necessários testes rápidos e confiáveis visando a determinar a viabilidade de suas sementes.

Entre os testes rápidos de avaliação da qualidade fisiológica, destaca-se o de tetrazólio, cujo princípio bioquímico é baseado na alteração dos tecidos vivos na presença da solução do sal 2, 3, 5 - trifênil tetrazólio (MARCOS FILHO, 2015). Este teste mostra-se muito promissor pela rapidez e confiabilidade dos resultados, pois dependendo da espécie o resultado pode ser expresso em até 24 horas. No entanto, a eficácia do teste

de tetrazólio para avaliação da viabilidade está relacionada à aplicação de procedimentos apropriados a cada espécie, de modo a definir as condições adequadas desde a hidratação das sementes até a avaliação e interpretação do padrão de coloração exibido por elas.

O teste de tetrazólio tem sido indicado em programas interno de controle de qualidade de sementes de grandes culturas, como em soja (FRANÇA NETO et al., 1998), braquiária (NOVEMBRE; CHAMA; GOMES, 2006), milho (CHAMA; NOVEMBRE, 2007), algodão (CERVI; MENDONÇA et al., 2009), café (CLEMENTE et al., 2011) e canola (FLORES et al., 2015). Porém, sua utilização em sementes de hortaliças ainda é bastante restrita. No entanto, algumas espécies foram testadas e seus resultados foram bastante promissores, conforme verificado para abobrinha (BARROS et al., 2005), melancia (BHERING; DIAS; BARROS, 2005), tomate (SANTOS; NOVEMBRE; MARCOS FILHO, 2007) e pepino (LIMA; PINTO; NOVEMBRE, 2010).

Baseado no exposto, o presente trabalho teve como objetivo verificar a eficiência do teste de tetrazólio para determinar a viabilidade de sementes de quiabo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA

O quiabeiro é uma hortaliça-fruto anual, arbustiva, de porte ereto e caule semilenhoso que pode atingir até três metros de altura (FILGUEIRA, 2008). É originado de regiões quentes da África e foi introduzido no Brasil pelos escravos africanos, que o difundiram por meio de sua cultura aos hábitos alimentares dos brasileiros (CASTRO et al., 2008; FILGUEIRA, 2008).

Os frutos do quiabo, foco de interesse econômico, são do tipo cápsula fibrosa com sementes arredondadas, coloração variável, firmes e sem manchas, com a produção ocorrendo principalmente na haste principal e nas laterais (LANA et al., 2015). São ricos em vitaminas A e C, sendo fonte de cálcio, ferro, além de apresentar qualidades medicinais (OLIVEIRA et al., 2013; FILGUEIRA, 2008). Contudo, essa não é a única parte da planta com potencial de uso: suas folhas podem ser utilizadas em saladas e as sementes, que fornecem óleo aromático, podem ser utilizadas na alimentação humana e na fabricação de margarinas (MÜLLER, 1982).

No Brasil, o quiabo encontrou condições climáticas excelentes para o cultivo e produção, principalmente nos estados considerados mais quentes, especialmente nas regiões Sudeste e Nordeste, onde é considerada uma cultura bastante trabalhada, principalmente pelos agricultores familiares. Em razão da crescente preferência pelo consumidor, tem-se notado significativa expansão do quiabeiro em todas as regiões brasileiras, merecendo destaque os estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Sergipe (OLIVEIRA et al., 2003; MOTA et al., 2008; CAVALCANTE et al., 2010).

O Censo Agropecuário do IBGE (2006) estimou a produção brasileira de frutos de quiabo em 116.990 toneladas, sendo a região Sudeste

a maior produtora, com 65.351 toneladas, seguida pela Nordeste, com 37.168 toneladas. A produtividade do quiabeiro encontra-se em torno de 15 a 20 toneladas por ha⁻¹ (GALATI, 2013). Segundo o Instituto de Economia Agrícola (IEA, 2015), a produção de quiabo no ano de 2014 no estado de São Paulo foi de aproximadamente 21 mil toneladas produzidas em 1.524 ha, com produtividade média de 13.924 kg/ha.

Diversas cultivares de quiabo são plantadas no Brasil, com características distintas e adquiridas de acordo com as exigências do mercado. Santa Cruz 47 é a mais cultivada, caracterizando-se por ser uma planta vigorosa de internódios curtos, frutos de coloração clara, cilíndricos e com menor teor de fibra em relação às outras cultivares (SOUZA, 2012). Esta cultivar apresenta características desejáveis, como ciclo rápido, produção precoce, classificando-a como cultivar padrão de mercado e tendo a semente como seu principal meio de propagação (FILGUEIRA, 2008).

Suas sementes apresentam dormência tegumentar, resultando em altas porcentagens de sementes duras no final do teste de germinação. Mesmo sob condições ambientais favoráveis, a germinação é muito baixa e, para muitos casos, não acontece (BRASIL, 2009).

Sendo assim, a presença de sementes duras e a baixa porcentagem de germinação são desafios constantes no cultivo de quiabeiro, cultura pouco pesquisada, principalmente no tocante à área de tecnologia de sementes e, mais especificamente, sobre sua qualidade fisiológica. Com isso, ressalta-se a importância da busca de novos procedimentos que sejam rápidos e precisos para a avaliação da qualidade das sementes.

2.2 QUALIDADE FISIOLÓGICA DAS SEMENTES

A qualidade da semente pode ser conceituada como o somatório dos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, cujos componentes são de importância equivalentes, mas o potencial fisiológico geralmente tem sido considerado com atenção especial da pesquisa (MARCOS-FILHO, 2015). Segundo França Neto; Krzyzanowski; Henning (2010), esses fatores expressam a habilidade da semente em gerar plântulas capazes de superar as diversas condições edafoclimáticas, tornando-se plantas adultas normais, resultando no estabelecimento uniforme da lavoura.

A determinação do potencial fisiológico das sementes se faz necessária para assegurar ao produtor a sua boa qualidade, dando credibilidade à empresa produtora, refletindo-se principalmente em campos de produção, onde o principal objetivo aliado à produtividade é a obtenção da elevada qualidade fisiológica (MARCOS-FILHO, 2011; SCHEEREN et al., 2010). Em regra, o estabelecimento para produção de hortaliças é realizado via sementes. Por isso, torna-se fundamental a utilização de sementes com potencial fisiológico elevado para garantir o sucesso do empreendimento (MARCOS-FILHO, 2015).

A qualidade fisiológica das sementes pode ser avaliada por vários testes. Entretanto, o teste de germinação é considerado o teste oficial e vem sendo utilizado rotineiramente, cujo aprimoramento constante da metodologia resultou no alto nível de confiabilidade e reprodutibilidade (SPINOLA et al., 1998; ALMEIDA et al., 2010). O teste de germinação determina, numa amostra, as sementes vivas e capazes de produzir plantas normais sob condições favoráveis. Este teste foi desenvolvido e aperfeiçoado para avaliar o valor das sementes para o plantio, bem como para comparar lotes, servindo como base para o comércio de sementes, oferecendo às sementes as condições mais favoráveis, tais como luz,

substratos temperatura e umidade e aeração (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

A interpretação do teste de germinação é feita de acordo com o desenvolvimento das estruturas das plântulas e expressa em porcentagem, o reduzido percentual de germinação é o primeiro indicativo da baixa qualidade fisiológica, que pode estar associada também à redução do vigor (SANTOS et al., 2014). No Brasil, os critérios utilizados para avaliação da qualidade das sementes seguem algumas normas determinadas e inspecionadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA, contidas no manual de Regras para Análises de Sementes- RAS (BRASIL, 2009).

Quando conduzido em condições favoráveis, o teste de germinação permite que os lotes de sementes expressem sua capacidade máxima (BERTOLIN et al., 2011). Porém, tais condições não são encontradas no campo, causando divergência com relação aos resultados obtidos em laboratório (SILVA; VIEIRA, 2006). Esse teste ainda apresenta desvantagem quando se trabalha com sementes dormentes, pois estas necessitam de quebra de dormência. Assim, o teste pode ser demorado e superestimar o potencial germinativo das sementes (MARCOS-FILHO, 2015). Outro aspecto a ser considerado é a demora para obtenção dos resultados, determinada pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), de maneira específica para cada espécie, tornando-se uma limitação em algumas.

Recentemente, busca-se cada vez mais por testes que forneçam os resultados em período de tempo mais curto para agilizar as tomadas de decisão nas diferentes etapas do processo produtivo (BHERING; DIAS; BARROS, 2005). Assim, a escolha correta do teste é fator primordial,

principalmente em hortaliças, cujo custo das sementes e do processo produtivo é bastante elevado (FRANZIN et al., 2004).

Nesse sentido, o estudo de atributos que determinam a qualidade fisiológica ganha cada vez mais importância, pois determinam quais as sementes apresentam qualidade superior e maior potencial de sucesso no campo, contribuindo para elevação da produtividade agrícola (TUNES et al., 2011).

Desse modo, é necessária a utilização de testes rápidos que permitam avaliar a qualidade fisiológica e identificar possíveis diferenças entre lotes de sementes, que não foram verificadas pelo teste de germinação, além de ser uma ferramenta importante para complementação das informações obtidas no teste de germinação (KIKUTI; MARCOS-FILHO, 2012).

2.3 TESTE DE TETRAZÓLIO

Como alternativa ao teste de germinação, outros testes podem ser realizados para avaliar a qualidade fisiológica das sementes. Estes, por sua vez, são eficientes e rápidos, pois eliminam o período necessário para superação da dormência, e os resultados não são influenciados por ataques de micro-organismos (GARLET; SOUZA; DELAZERI, 2015). De acordo com Deminici et al. (2009), a utilização de testes rápidos em programas de controle de qualidade de sementes merece atenção dos tecnologistas, produtores e pesquisadores, buscando melhorar a eficiência na avaliação da qualidade fisiológica de sementes. Ainda nesse sentido, Cervi; Mendonça (2009) afirmam que avaliação rápida possibilita o descarte de lotes de baixa qualidade.

Dentre os testes rápidos de viabilidade, o teste de tetrazólio vem se

consagrando como um método eficaz, que pode ser utilizado para estimar rapidamente a viabilidade de sementes em geral. Este teste foi desenvolvido por Lakon em 1949 e posteriormente aperfeiçoado e divulgado por Moore em 1976 (FRANÇA NETO et al., 1998), objetivando a distinção das sementes viáveis e não viáveis, indicado principalmente para sementes que apresentam dormência ou germinação lenta (BRASIL, 2009).

O princípio do teste tetrazólio baseia-se na alteração da coloração dos tecidos vivos da semente na presença de solução de sal de tetrazólio, em função das alterações na atividade respiratória, relacionando à viabilidade ou não da semente (MARCOS-FILHO, 2015).

O teste de tetrazólio consiste na atividade de enzimas do grupo das desidrogenases, particularmente a desidrogenase do ácido málico, diretamente envolvida na atividade respiratória das sementes, que catalisam a redução dos íons do sal de tetrazólio (cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio) nos tecidos vivos. Durante a respiração celular, ocorre a liberação de íons hidrogênio, que reagem com o sal de tetrazólio, substância incolor e difusível, formando uma coloração vermelha e insolúvel, denominada trifetilformazan, caracterizando os tecidos vivos da semente (FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI; COSTA, 1998; OLIVEIRA, 2012).

Nesse sentido, a formação do composto vermelho indica que o sal de tetrazólio foi reduzido, ou seja, é constatada viabilidade celular nos tecidos. As sementes vigorosas apresentam coloração rósea a vermelho brilhante, ao passo que as deterioradas ou danificadas mecanicamente desenvolvem rapidamente uma coloração vermelha-escura. Por outro lado, nos tecidos mortos as enzimas desidrogenases estão inativadas e por isso não ocorre a reação com o sal de tetrazólio e, conseqüentemente, as sementes permanecem descoloridas (DELOUCHE et al., 1976; MOORE, 1985; AOSA, 2009; MARCOS-FILHO, 2015). Outro aspecto de grande relevância

apresentado pelo teste de tetrazólio, já mencionado, é que ele não é afetado pela incidência de microrganismos (KRZYZANOWSKI et al., 2006).

Normalmente, os resultados de viabilidade obtidos pelos testes de tetrazólio e de germinação devem ser semelhantes, verificando correlação positiva, sendo permitidas diferenças de até 5% entre estes (FERREIRA et al. 2004). Diversos fatores podem interferir na obtenção de resultados satisfatórios no teste de tetrazólio, principalmente aqueles relacionados aos procedimentos de execução, como pré-condicionamento, preparo das sementes, concentração da solução, período de exposição, temperatura e critérios de interpretação (GUEDES et al., 2010; GASPAR-OLIVEIRA et al., 2011).

Estudos descrevem algumas metodologias com relação ao pré-condicionamento ou hidratação das sementes antes do teste de tetrazólio, de forma que esse umedecimento pode ser realizado sobre ou entre folhas de papel, previamente umedecidas, ou imersão direta das sementes em água (GASPAR OLIVEIRA et al., 2011; GRZYBOWSKI et al., 2012). Tudo isso tem os objetivos de promover a hidratação das sementes, facilitar a realização do corte e proporcionar a penetração da solução de tetrazólio, bem como a ativação do sistema enzimático (AZERÊDO; PAULA; VALERI, 2011), sendo necessário em algumas espécies e altamente recomendado para outras (BRASIL, 2009).

Trabalhando com sementes de girassol (SILVA et al., 2013), cevada (GRZYBOWSKI et al., 2012) e amendoim (SANTOS et al., 2012), foram verificados melhores resultados mediante hidratação por imersão direta em água, para condução do teste de tetrazólio.

A escolha do método de preparo para o teste de tetrazólio dependerá das características da semente. Dentre os métodos de preparo, o corte e a retirada do tegumento são os mais utilizados (BRASIL, 2009), a realização

desse permite a visualização das estruturas internas da semente, sendo indicado para algumas espécies, como braquiária (NOVEMBRE; CHAMMA; GOMES, 2006), aveia preta (SOUZA; OHLSON; PANOBIANCO, 2009) e tritcale (SOUZA et al., 2010). Além de permitir melhor visualização dos tecidos, outra vantagem para realização do corte consiste na redução do tempo de preparo das sementes, como sugerido para as espécies de soja (COSTA; MARCOS-FILHO, 1994), cenoura (ANDRADE et al., 1996), abóbora (DIAS et al., 2001) e tomate (SANTOS et al., 2007).

Em algumas espécies da família *Malvaceae*, como em *Gossypium* spp. e *Hibiscus* spp., o corte das sementes antes da imersão na solução de tetrazólio é recomendado pelas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009), devido à impermeabilidade do tegumento, permitindo melhor o contato entre os tecidos e a solução, facilitando o desenvolvimento rápido e uniforme da coloração nas sementes.

A escolha da concentração da solução de tetrazólio, assim como o tempo de exposição, é variável entre as espécies, e deve ser suficiente para obtenção da coloração e proporcionar de maneira precisa a diferenciação entre embriões viáveis e inviáveis. Silva et al. (2013) e Souza et al. (2010) relataram dificuldades na avaliação das estruturas essenciais em sementes de girassol e tritcale, respectivamente, quando utilizaram baixas concentrações e curtos períodos de tempo. Da mesma forma, concentrações mais elevadas promovem a intensificação da coloração, dificultando o reconhecimento das estruturas, além de aumentar os custos com o teste.

Com relação à temperatura, Marcos-Filho (2015) recomenda que as sementes imersas na solução de tetrazólio sejam colocadas em câmara regulada à temperatura de 30 a 40 °C, e mantidas no escuro, pois a solução

de tetrazólio é fotossensível, e a luz pode alterar a coloração e comprometer os resultados do teste.

Neste sentido, para a metodologia correta do teste, o analista deve possuir bom conhecimento sobre a morfologia da semente em estudo, pois, embora seja considerado um método simples, seus resultados poderão ficar comprometidos, gerando um resultado não confiável.

A avaliação da qualidade fisiológica por meio do teste de tetrazólio é usada na análise de rotina de algumas espécies, como na cultura da soja (COSTA et al., 1998), braquiária (NOVEMBRE et al., 2006), milho (CHAMMA; NOVEMBRE, 2007), amendoim (SANTOS et al., 2012, algodão (CERVI; MENDONÇA, 2009), girassol (SILVA et al., 2013) trigo (CARVALHO et al., 2013) por apresentar qualidade e rapidez nos resultados. Entre as hortaliças, o teste de tetrazólio também tem sido empregado para avaliar a viabilidade das sementes, conforme já observado em: abobrinha (BARROS et al., 2005), tomate (SANTOS, 2007), melancia (NERY; CARVALHO; OLIVEIRA, 2007), pepino (LIMA; PINTO e NOVEMBRE, 2010). No entanto, para o quiabo, ainda não há informações sobre seu uso em programas internos de controle de qualidade, devido à escassez de padronização da metodologia para condução do teste.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. S.; PINTO, J. F.; DEUNER, C.; VILLELA, F. A. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de melancia. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 17, n. 1, p. 68-77, 2010.
- ANDRADE, R. N. B.; SANTOS, D. S. B.; SANTOS FILHO, B. G.; MELLO, V. D. C. Testes de germinação e de tetrazólio em sementes de cenoura armazenadas por diferentes períodos. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 18, n. 1, p. 108-116, 1996.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS – AOSA. **Seed vigour testing handbook**. East Lansing: AOSA, 2009.
- 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.
- BARROS, D. I.; DIAS, D. C. F. S.; BHERING, M. C.; DIAS, L. A. S.; ARAÚJO, E. F. Uso do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de abobrinha. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v. 27, n. 2 p. 165-171. 2005.
- BERTOLIN, B. C.; SÁ, M. E.; MOREIRA, E. R. Parâmetros do teste de envelhecimento acelerado para determinação do vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 104-112, 2011.
- BHERING, M. M.; DIAS, D. C. F. S.; BARROS, D. I. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 176-182, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012.
- CARVALHO, T. C.; KRZYZANOWSKI, F. C. S.; OHLSON, O. C. PANOBIANCO M. Tetrazolium test adjustment for wheat seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina v. 35, n. 3, p. 361-367, 2013.
- CASTRO, M. M.; GODOY, A. R.; CARDOSO, A. I. I. Qualidade de sementes de quiabeiro em função da idade e do repouso pós-colheita dos frutos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1491-1495, 2008.

CAVALCANTE, L. F.; DINIZ, A. A.; SANTOS, L. C.; REBEQUI, A. M.; NUNES, J. N.; BREHM, M. A. S. Teores foliares de macronutrientes em quiabeiro cultivado sob diferentes fontes e níveis de matéria orgânica. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 19-28, 2010.

CHAMMA, H. M. C. P.; NOVENBRE, A. D. L. C. Teste de tetrazólio para as sementes de milho: períodos de hidratação e de coloração das sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 125-129, 2007.

CERVI, F.; MENDONÇA, E. A. F. Adequação do teste de tetrazólio para sementes de algodoeiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 31, n. 1, p.177-186, 2009.

CLEMENTE, A. C. S.; CARVALHO, M. L. M.; GUIMARAES, R. M.; ZEVIANI, W. M. Preparo das sementes de café para avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 1 p. 38-44, 2011.

COSTA, N. P.; MARCOS FILHO, J. Alternative methodology for the tetrazolium test for soybeanseed. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 22, n. 1, p. 9-17, 1994.

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

DEMINICIS, B. B.; VIEIRA, H. D.; ARAÚJO, S. A. C.; JARDIM, J. G.; PÁDUA, F. T.; CHAMBELA NETO, A. Dispersão natural de sementes: importância, classificação e sua dinâmica nas pastagens tropicais. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 35-58, 2009.

DIAS, D. C. F. S.; BARROS, D. I.; BHÉRING, M. C.; ARAÚJO, E. F.; DIAS, L. A. S. Teste de tetrazólio em sementes de abóbora. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 11, n. 2, p. 124, 2001.

FERREIRA, R. A.; DAVIDE, A. C.; MOTTA, M. S. Vigor e viabilidade de sementes de *Senna multijuga* (Rich.) Irwin et Barn. e *Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn. num banco de sementes em solo de viveiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 24-31, 2004.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3º ed. Viçosa: Ed UFV, 2008.

FLORES, M. A. F.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; PAZOLINI, K.; POSSENTI, J. C.; PANOBIANCO, M. Criteria for implementation of a tetrazolium test in canola seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 37, n. 4, p. 222-227, 2015.

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

FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. A. Importância do uso de semente de soja de alta qualidade. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 20, n. 2, p. 37-38, 2010.

FRANZIN, S. M.; MENEZES, N. L.; GARCIA, D. C.; WRASSEET, C. F. Métodos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de alface. **Revista Brasileira de Sementes**. Pelotas, v. 26, n. 2 p. 63-69, dez. 2004.

GALATI, V. C.; CECÍLIO FILHO, A. B.; ALVES, A. U. Crescimento e acúmulo de nutrientes da cultura do quiabeiro. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 191-200, 2013.

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

GRZYBOWSKI, C. R. S.; OHLSON, O. C.; SILVA, R. C.; PANOBIANCO, M. Viabilidade de sementes de cevada pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 47-54, 2012.

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.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário de 2006**: Brasil grandes regiões e unidades da Federação, 775 p. 2006. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil_2006/Brasil_censoagro2006.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2014.

IEA – Instituto de Economia Agrícola, 2015. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/bancodedados.html>>. Acesso em: 19 ago. 2015.

KIKUTI, A. L. P.; MARCOS-FILHO, J. Testes de vigor em sementes de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 44-50, 2012.

KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; FRANÇA NETO, J. B.; COSTA, N. P. Tecnologias que valorizam a semente de soja. **Seed News**, Pelotas, v. 4, n. 6, 2006.

LANA, M. M.; SANTOS, F. F.; LUENGO, R. F. A.; TAVARES, A. A.; MELO, M. F.; MATOS, M. J. L. F. **Embrapa Hortaliças**. Hortaliças: quiabo. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/dicas_ao_consumidor/quiabo.htm>. Acesso em: 03 nov. 2015.

LIMA, L. B.; PINTO, T. L. F.; NOVENBRE, A. D. L. C. Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de pepino pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1 p. 60-68, 2010.

JESUS, P. P.; SILVA, J. S.; MARTINS, J. P.; RIBEIRO, D. D.; ASSUNÇÃO, H. F. Transição agroecológica na agricultura familiar: relato de experiência em Goiás e Distrito Federal. **Revista de Geografia Agrarias**, Jundiaí, v. 6, n. 11, p. 363-375, 2011.

JARRET, R. L.; WANG, M. L.; LEVY, I. J. Seed oil and fatty acid content in okra (*Abelmoschus esculentus*) and related species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, München, v. 59, n. 8, p. 4019-4024, 2011.

MARCOS-FILHO, J. Testes de vigor: dimensão e perspectivas. **Seed News**, Pelotas, v. 15, n. 1, 2011.

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

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

MOTA, W. F.; FINGER, F. L.; SILVA, D. J. H.; CORRÊA, P. C.; FIRME, L. P.; RIBEIRO, R. A. Composição mineral de frutos de quatro cultivares de quiabo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 762-767, 2008.

MÜLLER, J. J. V. Produção de sementes de quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). **Seminário de olericultura**. 2.ed. Viçosa: UFV, 1982. v. 1, p. 107-149.

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.

NOVENBRE, A. D. L. C.; CHAMMA, H. M. C. P.; GOMES, R. B. R. Viabilidade das sementes de braquiária pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 2, p. 147-151, 2006.

OLIVEIRA, A. P.; ALVES, A. U.; DORNELAS, C. S. M.; SILVA, J. A.; PORTO, M. L.; ALVES, A. U. Rendimento de quiabo em função de doses de nitrogênio. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 25, p. 265-268, 2003.

OLIVEIRA, A. P.; OLIVEIRA, A. N.; SILVA, O. P. R.; PINHEIRO, S. M.; GOMES NETO, A. D. Rendimento do quiabo adubado com esterco bovino e biofertilizante. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 2629-2636, 2013.

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

SANTOS, J. F.; SANCHES, M. F. G.; BARBOSA, R. M.; LEÃO, E. F.; VIEIRA, R. D. Optimising tetrazolium test procedures to evaluate the physiological potential of peanut seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 40, n. 2, p. 215-228, 2012.

SANTOS, M. A. O.; NOVENBRE, A. D. L. C.; MARCOS FILHO, J. Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 35, n. 1, p. 213-223, 2007.

SANTOS, S. R. N.; BRUNO, R. L. A.; SILVA, K. R. G.; ALVES, E. U.; PACHECO, M. V.; ANDRADE, A. P. Adequacy of methodology for germination of diaspores of barauna, *Schinopsis brasiliensis* (Anacardiaceae). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 737-745, 2014.

SCHEEREN, B. R.; PESKE, S. T.; SCHUCH, L. O. B.; BARROS, A. C. A. Qualidade fisiológica e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 3 p. 35-41, 2010.

SILVA, J. B.; VIEIRA, R. D. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de beterraba. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 128-134, 2006.

SILVA, R. C.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; FRANÇA-NETO, J. B.; PANOBIANCO, M. Adaptação do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v. 48, n. 1, p. 105-113, 2013.

SOUZA, C. R.; OHLSON, O. C.; GAVAZZA, M. I. A.; PANOBIANCO, M. Tetrazolium test for evaluating triticale seed viability. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 3 p. 163-169, 2010.

SOUZA, C. R.; OHLSON, O. C.; PANOBIANCO, M. Avaliação da viabilidade de sementes de aveia preta pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 57-62, 2009.

SOUZA, I, M. **Produção do quiabeiro em função de diferentes tipos de adubação**. Dissertação (Mestrado em Agroecossistema), 2012. 66f. Universidade Federal de Sergipe, 2012.

SPINOLA, M. C. M.; CALIARI, M. F.; MARTINS, L.; TESSARIOLI NETO, J. Comparação entre métodos para avaliação do vigor de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 301-305, 1998.

TUNES, L. M.; PEDROSO, D. C.; BARBIERI, A. P. P.; CONCEIÇÃO, G. M.; ROETHING, E.; MUNIZ, M. F. B.; BARROS, A. C. S. A. Envelhecimento acelerado modificado para sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) e sua correlação com outros testes de vigor. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 9, n. 1, p. 12-17, 2011.

CAPÍTULO II

PREPARO DAS SEMENTES DE QUIABO PARA O TESTE DE TETRAZÓLIO

RESUMO

SOUZA, Antônia Adailha Torres. **Preparo das sementes de quiabo para o teste de tetrazólio**. 2016. 74f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2016.

O teste de tetrazólio é um método rápido e eficaz para avaliar a viabilidade das sementes. No entanto, sua eficiência está relacionada a procedimentos específicos para cada espécie. O presente trabalho teve por objetivo estabelecer procedimentos de pré-condicionamento e preparo das sementes de quiabo, cultivar Santa Cruz 47, para realização do teste de tetrazólio. Inicialmente, três métodos para superar a dureza tegumentar das sementes foram avaliados visando à melhor forma de pré-condicionamento: ácido sulfúrico (96%) por 1, 3 e 6 minutos; água quente (60 °C) por 3, 6 e 10 minutos e álcool etílico (98%) durante 30, 60 e 90 minutos, com quatro repetições de 25 sementes. Após a realização dos pré-tratamentos, as sementes foram imersas em água destilada a 25 °C por 18 horas. Em seguida, duas repetições de 25 sementes foram expostas à solução de tetrazólio, sendo avaliadas pelo corte longitudinal no sentido do seu comprimento e, no outro, as sementes permaneceram intactas. Na etapa seguinte, as sementes foram imersas nas concentrações da solução de tetrazólio de 0,025 e 1% durante os períodos 30, 60, 90 e 120 minutos em câmara de germinação na ausência de luz. As sementes foram analisadas individualmente de acordo com a intensidade e localização da coloração, classificando-as em quatro classes: sementes descoloridas, coloração fraca, satisfatória e excessiva. Para a fase de pré-condicionamento, recomenda-se a imersão das sementes em álcool por 60 minutos, seguida de 18 horas de embebição em água destilada a 25 °C. O seccionamento longitudinal das sementes foi o melhor procedimento para facilitar a penetração da solução de tetrazólio nos seus tecidos. Para a coloração dos tecidos da semente, deve-se utilizar a solução de tetrazólio a partir da concentração de 0,025% e tempo de exposição de 90 minutos.

Palavras-chave: Pré-condicionamento; sementes duras; coloração.

ABSTRACT

SOUZA, Antonia Torres Adailha. **Preparation of okra seeds for tetrazolium test.** 2016 74p. Thesis (MS in Agronomy: Plant Science) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró - RN, 2016.

The tetrazolium test is a quick and effective method to evaluate the viability of the seeds. However, the performance is related to procedures specified to each species. This study aimed to establish preconditioning procedures and preparation of okra seeds cv. Santa Cruz 47, to perform the tetrazolium test. Initially, three methods to overcome the cutaneous hardness seeds were assessed for the best way of preconditioning: sulfuric acid (96%) for 1, 3 and 6 minutes; warm water (60 ° C) for 3, 6 and 10 minutes and ethyl alcohol (98%) for 30, 60 and 90 minutes, with four replicates of 25 seeds. After completion of the pre-treatments, seeds were immersed in distilled water at 25 ° C for 18 hours and then the number of hard seeds was quantified. Then two repetitions of 25 seeds were exposed to tetrazolium solution, being evaluated by the longitudinal section along its length and, on the other, the seeds remained intact. In the next step, the seeds were immersed in the solution of the tetrazolium concentrations of 0.025 and 0.1% during the periods 30, 60, 90 and 120 minutes in a germination chamber in the absence of light. The seeds were analyzed individually according to the intensity and location of color, classifying them into four classes: discolored seeds, weak staining, satisfying and excessive. For preconditioning phase, it is recommended soaking seeds in alcohol for 60 minutes followed by 18 hours of immersion in distilled water at 25 ° C. The longitudinal splitting of the seeds was the best procedure to facilitate penetration of the tetrazolium solution in their tissues. For the coloration of seed tissue, we must use the tetrazolium solution at a concentration of 0.025% and an exposure time of 90 minutes.

Keywords: Preconditioning; hard seeds; coloring.

1. INTRODUÇÃO

O quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench] é uma hortaliça anual, pertencente à família *Malvaceae*, originária da África e introduzida no Brasil pelos escravos (FILGUEIRA, 2008). Devido à sua rusticidade, essa espécie pode ser produzida em regiões de clima quente durante todo o ano (OLIVEIRA et al., 2007) e não exige tecnologia avançada para seu cultivo (OLIVEIRA et al., 2003). É uma cultura amplamente cultivada no Brasil e muito importante sob os pontos de vista econômico e social, mas ainda pouco contemplada pela pesquisa, sobretudo na área de sementes (TORRES et al., 2014).

A análise de sementes é essencial no controle de qualidade de sementes, cujas informações são importantes na tomada de decisão quanto à destinação dos lotes de sementes (MARCOS FILHO, 2015). As obtenções dessas informações precisam ser rápidas e confiáveis, mas nem sempre isso é possível, pois o teste de germinação, que avalia a qualidade fisiológica, tem duração de 21 dias para sementes de quiabo (BRASIL, 2009).

Atualmente, um dos testes mais utilizados para se avaliar a viabilidade das sementes é o de tetrazólio, considerando sua precisão e rapidez (GARLET; SOUZA; DELAZERI, 2015), tornando-se, com isso, uma importante ferramenta para avaliar a viabilidade das sementes dentro dos programas de controle de qualidade (MARCOS FILHO, 2015). Mas para isso, o teste de tetrazólio exige procedimentos adequados e específicos para cada espécie.

Diversos fatores interferem na obtenção de resultados do teste de tetrazólio. Entre essas interferências, estão o preparo das sementes antes da coloração, a concentração da solução de tetrazólio, o período e temperatura de exposição à solução, além dos critérios de interpretação (GASPAR

OLIVEIRA; MARTINS; NAKAGAWA, 2010).

O primeiro procedimento para condução do teste de tetrazólio consiste no preparo das sementes, que corresponde à fase de pré-umedecimento (hidratação) para facilitar a absorção da solução de tetrazólio, sendo necessário para algumas espécies e altamente recomendado para outras (BRASIL, 2009). O período de hidratação das sementes para o teste de tetrazólio deve ser específico para cada espécie, de modo a definir as condições mais adequadas e, portanto, essencial para obtenção de resultados mais precisos.

Além do pré-condicionamento, a utilização da concentração da solução de tetrazólio, tempo e temperatura de condicionamento e avaliação adequada da coloração das sementes são fundamentais para que se obtenham resultados confiáveis sobre a qualidade das sementes (OLIVEIRA; CARVALHO; DAVIDE, 2005), cujo tempo para a coloração varia entre espécies. Ainda segundo esses autores, o período de tempo e a temperatura empregada para o pré-condicionamento são essenciais, pois uma pré-embebição inadequada pode comprometer a penetração do sal nos tecidos e, conseqüentemente, interferir na coloração, gerando resultados não confiáveis.

Em função do exposto, o presente trabalho teve como objetivo estabelecer o procedimento adequado de pré-condicionamento e preparo de sementes de quiabo para a avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no período de janeiro a fevereiro de 2015, no Laboratório de Análise de Sementes, pertencente ao Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN. Para isso, foram utilizadas sementes de quiabo, cultivar Santa Cruz 47, adquiridos junto às empresas nacionais produtoras de sementes, safra 2013/2014. Realizaram-se testes preliminares visando a determinar os procedimentos de pré-condicionamento, preparo, concentrações de solução de tetrazólio e o período de tempo necessário para se obter coloração adequada à avaliação e interpretação dos testes.

Preliminarmente, determinou-se o teor de água das sementes pelo método de estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas, com duas subamostras de cinco gramas de sementes por lote. O teor de água foi calculado na base do peso úmido de acordo com as recomendações de Brasil (2009).

Posteriormente, realizou-se a curva de absorção de água pelas sementes através de pesagens sucessivas. Para isso, duas repetições de 25 sementes foram inicialmente pesadas a cada duas horas, em balança de precisão (0,001g). Antes, as sementes foram colocadas em copos plásticos contendo 50 mL de água destilada e mantidas em câmara do tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D.), a 25°C. Antes de cada pesagem, as sementes foram retiradas da água, secas superficialmente com papel toalha (*Germitest*), pesadas e colocadas novamente para embeber em água destilada. Esse procedimento foi realizado até o momento da protrusão da raiz primária.

Diante dos valores das pesagens, calculou-se a porcentagem de ganho de água em cada período em relação ao peso inicial das sementes, a

fim de se estabelecer a curva de absorção de água, conforme a fórmula

proposta por Oliveira e Bosco (2013):
$$GP = \left(\frac{Pf - Pi}{Pi} \right) \times 100$$

Em que:

GP = ganho de peso (%);

Pi = peso inicial das sementes (g);

Pf = peso final das sementes em cada tempo (g).

Por meio da curva de absorção de água das sementes, foi possível observar a presença de muitas sementes duras. Em virtude disso, testaram-se três tratamentos para facilitar a fase do pré-condicionamento: ácido sulfúrico (H₂SO₄), água quente (60°C) e álcool etílico (98%), com quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento a 25 °C.

Para o tratamento com ácido sulfúrico (96%), quatro repetições de 25 sementes foram acondicionadas em béquer, acrescentando-se o reagente até o ponto de cobri-las por 1, 3 e 6 minutos. Decorridos esses períodos, as sementes foram lavadas em água corrente por aproximadamente dois minutos para a retirada do resíduo (Figura 1-A).

Para o tratamento térmico, quatro repetições de 25 sementes foram acondicionadas em saquinhos de tecido de nylon (filó), que foram imersos em água quente (60 °C) em banho-maria (modelo NT 245) por 3, 6 e 10 minutos (Figura 1-B).

Os períodos de pré-tratamento das sementes com álcool etílico (98%) foram de 30, 60 e 90 minutos, com lavagem em água corrente por dois minutos (Figura 1-C).

Após a realização dos pré-tratamentos, as sementes foram pré-umedecidas em água, colocadas em copos plásticos de 50 mL contendo

água destilada, durante 18 horas a 25°C. Este procedimento foi conduzido em conformidade com os resultados obtidos no teste preliminar da curva de absorção de água pelas sementes, visando a obter a melhor maneira para a realização do preparo e coloração nas sementes de quiabo.



Figura 1- Procedimentos de pré-condicionamento das sementes de quiabo, cultivar Santa Cruz 47, para o teste de tetrazólio. Ácido sulfúrico (96%) (A); água quente (60 °C) (B) álcool etílico (98%) (C). Fonte: Dados da pesquisa.

Com base nos resultados dos procedimentos obtidos na fase de pré-condicionamento, testaram-se duas maneiras de exposição das sementes (com e sem corte), utilizando-se duas repetições de 25 sementes para cada tratamento.

Com auxílio de um bisturi, as sementes foram seccionadas no sentido longitudinal do seu comprimento. O eixo embrionário foi exposto e selecionou-se um dos cotilédones que possibilitasse melhor visualização das estruturas internas. Em seguida, as sementes de ambos os tratamentos foram imersas na solução do sal de tetrazólio.



Figura 2 – Procedimentos no preparo de sementes de quiabo, cultivar Santa Cruz 47 para o teste de tetrazólio. Corte longitudinal no sentido do comprimento (A); semente cortada (B); sementes imersas na solução de tetrazólio (C). Fonte: Dados da pesquisa.

Após definição do melhor procedimento de pré-condicionamento e preparo das sementes, realizaram-se estudos em relação à concentração do sal de tetrazólio e o tempo de exposição.

Para a coloração, as sementes foram distribuídas em recipientes de plástico e imersas em 10 mL de solução de 2,3 e 5 - trifenil cloreto de tetrazólio, nas concentrações de 0,025 e 1,000%, durante 30, 60, 90 e 120 minutos em câmara de germinação, a 35 °C, na ausência de luz. O desenvolvimento da coloração foi observado a cada 30 minutos visando a determinar o período mais adequado para cada concentração da solução de tetrazólio. Esse procedimento foi realizado até que fosse atingida a coloração adequada e uniforme dos tecidos, permitindo a classificação das sementes quanto à viabilidade. Decorridos os períodos, as sementes foram lavadas em água corrente para a remoção do excesso da solução do sal de tetrazólio e avaliadas sob lupa de mesa (aumento de seis vezes) com iluminação fluorescente.

Os dados da porcentagem de sementes duras, após a realização dos diferentes pré-tratamento seguidos de embebição por 18 horas, foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade com auxílio do *software* estatístico SISVAR[®] (FERREIRA, 2008).

Nas avaliações dos melhores procedimentos para a fase de hidratação, preparo e coloração para o teste de tetrazólio em sementes de quiabo, considerou-se o que proporcionou melhor visualização na análise das sementes, sendo esses parâmetros avaliados visualmente por comparação entre os métodos.

As sementes foram analisadas individualmente de acordo com a intensidade e localização da coloração, dando ênfase principalmente às áreas vitais e classificando-as em quatro classes de acordo com a coloração

obtida: sementes descoloridas, coloração fraca, satisfatória e excessiva, a fim de obter a melhor resposta dos procedimentos avaliados. O procedimento mais adequado de preparo das sementes de quiabo para o teste de tetrazólio nessa fase foi utilizado nas demais etapas desta pesquisa.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antes da embebição, as sementes de quiabo apresentaram teor de água inicial médio de 11,3% (Tabela 1). Esse fato é considerado importante, tendo em vista que sementes com teores de água abaixo de 10% são mais susceptíveis a danos por embebição (COSTA et al., 2008). Além disso, o teor de água semelhante entre os lotes é primordial para que os testes não sejam afetados por diferenças na atividade metabólica, velocidade de umedecimento e pela intensidade de deterioração das sementes (MARCOS FILHO, 2015).

Tabela 1. Teor de água inicial de lotes de sementes de quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47.

Lotes	Teor de água (%)
1	10,9
2	12,0
3	11,2
4	11,2
Média	11,3

Fonte: Dados da pesquisa.

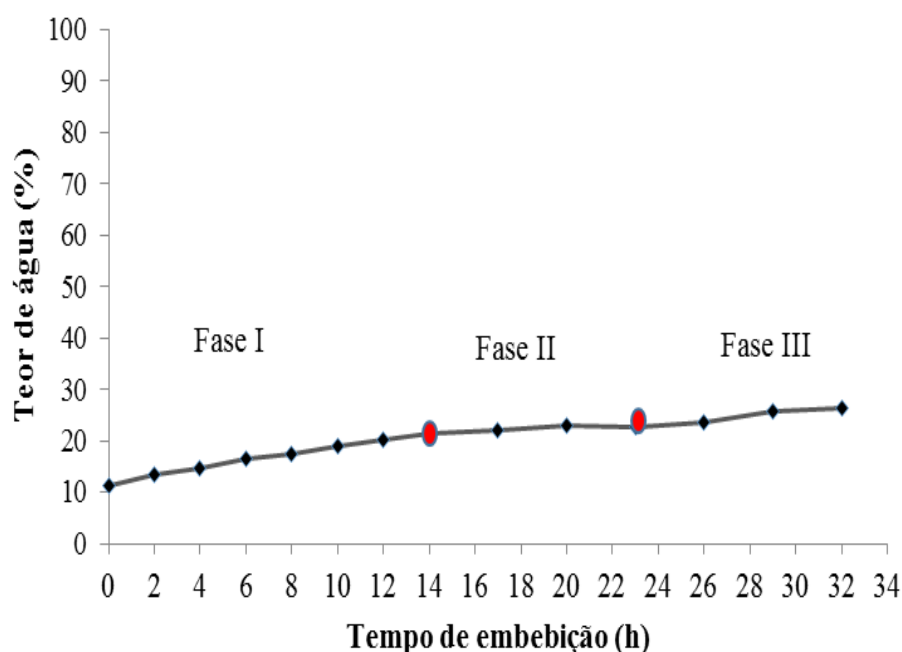
A determinação da curva de absorção de água pelas sementes é importante para auxiliar na identificação da existência ou não de dormência, principalmente a do tipo tegumentar, característica normalmente verificada em sementes de quiabo.

O processo de embebição para a maioria das sementes segue o modelo trifásico (BEWLEY; BLACK, 1994). As sementes de quiabo também apresentaram esse comportamento (Figura 3), verificando-se que, passadas duas horas após a imersão das sementes quiabo em água, algumas se

apresentaram intumescidas, indicando a Fase I ou de embebição, caracterizada pela rápida absorção de água.

De acordo com Carvalho e Nakagawa (2012), o maior índice de absorção e ganho de peso pelas sementes ocorre nas primeiras horas após a imersão em água. No entanto, para a espécie em estudo, o período entre 0 a 14 horas de embebição (Fase I) proporcionou aumento significativo de massa úmida nas sementes, caracterizando no final desse período a mudança da Fase I para a Fase II (Figura 3).

Figura 3. Curva de absorção de água pelas sementes de quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, sob temperatura de 25°C.



Fonte: Dados da pesquisa.

A fase II iniciou-se após as 14 horas de embebição e se estendeu até o período de 23 horas, quando o teor de água das sementes aumentou lentamente, estando praticamente estável (Figura 3). Essa fase é

caracterizada pela redução da velocidade de absorção de água e intensidade da respiração (MARCOS-FILHO, 2015). Segundo Castro et al. (2004), nessa fase as paredes celulares das células estão muito rígidas e por isso não absorvem mais água, por não conseguirem se expandir. Assim, o teor de água na semente tende a se estabilizar.

Após o período de reduzida absorção de água durante a fase II, as sementes voltaram a absorver água e o eixo embrionário iniciou a retomada do seu crescimento, culminando com a protrusão da raiz após 23 horas de embebição, caracterizando a Fase III e completando o processo trifásico da germinação (Figura 3).

Decorridas 32 horas de embebição, as sementes de quiabo atingiram o padrão trifásico proposto por Bewley e Black (1994). Entretanto, no final desse período, foi verificada uma curva bastante discreta devido à alta porcentagem de sementes duras (32%). Essa ocorrência se deve principalmente à dormência tegumentar, frequentemente constatada em sementes de quiabo. Manzano (2012) relata que a impermeabilidade das sementes pela dormência física pode estar relacionada às diferentes espessuras das camadas do tegumento, como a serosidade da cutícula, mecanismos bioquímicos diversos, explicando que estes podem variar de acordo com a espécie e genótipo.

Diante dos resultados obtidos, pode-se afirmar que as sementes de quiabo possuem baixa capacidade de absorção de água através do tegumento e comprovam que esta estrutura é a responsável pela dureza tegumentar conferindo impermeabilidade à água. Nesse sentido, Ribeiro (2008) afirma que a dureza tegumentar é um tipo de dormência muito frequente em sementes das famílias *Malvaceae*, *Convolvulaceae*, *Solanaceae* e *Liliaceae*.

Dessa forma, a importância da curva de absorção está relacionada tanto a estudos de impermeabilidade do tegumento quanto para determinação do período de absorção de água pelas sementes. Para as sementes de quiabo, o período de 18 horas foi verificado como o limite de tempo seguro para o pré-umedecimento das sementes que serão submetidas ao teste de tetrazólio (BRASIL, 2009).

Dentre os métodos de superação de dormência testados, verificou-se que os tratamentos com ácido sulfúrico concentrado (96%) e água quente (60 °C), independentemente do tempo de exposição, resultaram em alta porcentagem de sementes duras, variando de 57 a 73% (Tabela 2). Já para as sementes submetidas ao pré-tratamento com álcool (98%) por 30, 60 e 90 minutos, verificou-se menor porcentagem de sementes duras, variando de 15 a 27%, não variando estatisticamente entre si (Tabela 2).

Tabela 2. Porcentagem de sementes duras de quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench), cultivar Santa Cruz 47, após diferentes pré-tratamentos seguidos de embebição por 18 horas.

Tratamento	Tempo (minutos)	Sementes duras (%)
Ácido sulfúrico (96%)	1	61bc
	3	73 c
	6	66 bc
Água quente (60 °C)	3	57 b
	6	59 b
	10	58 b
Álcool (98%)	30	27 a
	60	15 a
	90	19 a

Fonte: Dados da pesquisa.

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Esses resultados indicam que os tratamentos com ácido sulfúrico e água quente nos períodos avaliados não se mostraram eficientes para romper o tegumento das sementes de quiabo e promover a hidratação dos tecidos. Por outro lado, Lopes e Pereira (2004), também com sementes de quiabo, verificaram que a imersão em ácido sulfúrico por quatro minutos e imersão em água destilada por 3 minutos a 70°C constituíram-se em tratamentos eficientes na superação da dormência tegumentar. Já Souza et al. (2012) verificaram que a imersão de sementes de espinafre em água quente (70°C), por quatro minutos, apresentou resultado insatisfatório, com apenas 16% de germinação.

Nesse aspecto, o tratamento com álcool (98%) mostrou-se vantajoso tanto pela eficiência na superação da dormência quanto pela praticidade e custo. Preparando sementes de quiabo para o teste de tetrazólio, Eichelberger e Moraes (2001) verificaram que o melhor pré-tratamento foi a imersão em álcool (96%) por 30 minutos, seguida de lavagem em água corrente e posterior imersão em água (30 °C) por 24 horas.

Quando as sementes intactas foram imersas na solução de tetrazólio, não houve alteração da coloração, independentemente da concentração e do tempo de reação. Esse fato pode ser atribuído à impermeabilidade tegumentar da semente de quiabo, que impediu a penetração da solução de tetrazólio (Figura 4). Esse resultado concorda com Costa e Santos (2010), quando enfatizam a necessidade de preparo das sementes antes da imersão na solução de tetrazólio.

O corte das sementes, antes da imersão em solução de tetrazólio, embora seja uma operação delicada e trabalhosa, possibilita redução do tempo necessário para que estas adquiram a coloração adequada, sendo indicado para várias espécies, como melancia (NERY; CARVALHO; OLIVEIRA, 2007), tomate (SANTOS; NOVEMBRE; MARCOS-FILHO,

2007), pimentão (GAGLIARDI, 2009) e pepino (LIMA; PINTO; NOVENBRE, 2010).

Com relação às sementes seccionadas longitudinalmente e expostas à solução de tetrazólio, estas apresentaram diferentes comportamentos em função do tempo e concentração (Tabela 3). A separação dos cotilédones por meio da secção longitudinal através do eixo embrionário favoreceu o contato da parte interna da semente com a solução de tetrazólio, o que não ocorreu com as sementes intactas.

Tabela 3. Padrão de coloração de sementes de quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, cortadas longitudinalmente e expostas à solução de tetrazólio em diferentes tempos e concentrações.

Concentração	Tempo (minutos)	D	F	S	E
0,025%	30	90	10	0	0
	60	48	18	34	0
	90	6	30	64	0
	120	0	24	76	0
1,000%	30	42	48	10	0
	60	0	10	28	62
	90	0	0	22	78
	120	0	0	14	86

Fonte: Dados da pesquisa.

D = Sementes descoloridas; F = sementes com coloração fraca; S = sementes com coloração satisfatória; E = sementes com coloração excessiva.

As sementes de quiabo submetidas à solução de tetrazólio na concentração 0,025% por 30 e 60 minutos resultaram em maior número de sementes descoloridas (Figura 4), indicando que estas combinações de concentração e tempos foram ineficientes (Tabela 3).

Em sementes de girassol, Silva et al. (2013) também tiveram dificuldade de avaliar a viabilidade das sementes, quando utilizaram baixa concentração da solução de tetrazólio associada ao curto período de exposição. Por outro lado, a concentração de 0,025% por 90 e 120 minutos promoveu colorações mais adequadas nas sementes, facilitando a visualização e interpretação dos resultados do teste de tetrazólio (Figura 4). Essa combinação permitiu avaliação mais segura da viabilidade da semente, devido aos padrões mais uniformes de coloração (Tabela 3).

Segundo Silva et al. (2013), metodologias eficientes na utilização de solução de tetrazólio em baixas concentrações são importantes para otimizar a aplicação dos recursos dentro dos laboratórios e possibilitar a análise de mais amostras com menor custo.

Ainda de acordo com a Tabela 3, verifica-se que a concentração de 1% provocou coloração excessiva (Figura 4), quando a exposição das sementes se deu em maiores períodos de tempo (60, 90 e 120 minutos). Essa concentração também se mostrou inadequada à realização do teste de tetrazólio por ser bastante alta, dificultar a interpretação do teste e apresentar custo relativamente alto do sal (Figura 4).

Nesse mesmo sentido, Lima, Pinto e Novembre (2010) verificaram que essa concentração (1,0%) não se mostrou adequada para o gênero *Cucumis*, mesmo sendo recomendada pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Em sementes de canola, Flores et al. (2015) classificaram lotes de acordo com o teste de germinação, utilizando a concentração de 1,0% por duas horas de exposição, embora tenham relatado dificuldade na interpretação.

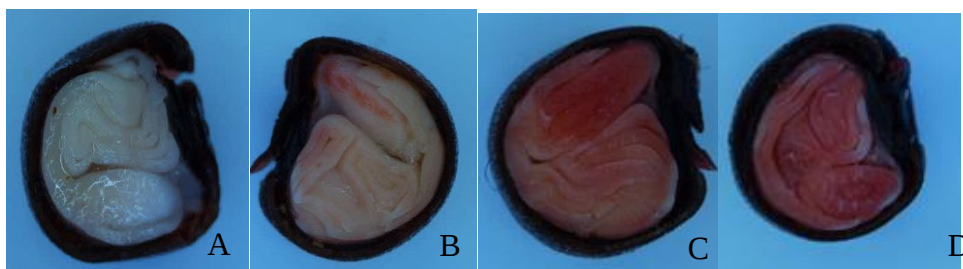


Figura 4 – Classificação da coloração semente de quiabo, cultivar Santa Cruz 47: semente descolorida (A); semente com coloração fraca (B); semente com coloração satisfatória (C); semente com coloração excessiva (D). Fonte: Dados da pesquisa.

4. CONCLUSÕES

O pré-condicionamento das sementes de quiabo, cultivar Santa Cruz 47, deve ser em álcool (98%) por 60 minutos, seguido de 18 horas de embebição em água, a 25°C.

O seccionamento longitudinal das sementes de quiabo é o procedimento mais eficiente para a coloração dos tecidos junto à solução de tetrazólio.

A coloração das sementes de quiabo é obtida na solução de tetrazólio a partir da concentração 0,025%.

REFERÊNCIAS

- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. Londres: Plenum Press, 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: MAPA/ ACS, 2009.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012.
- CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W.M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (org.). **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto alegre: ARTMED, 2004. p. 149-162.
- COSTA, C. J.; VILLELA, F. A.; BERTONCELLO, M. R.; TILLMANN, M. A. A.; MENEZES, N. L. Pré-hidratação de sementes de ervilha e sua interferência na avaliação do potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 198-207, 2008.
- 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.
- EICHELBERGER, L.; MORAES, D. M. Preparo de sementes de quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) para o teste tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 154-158, 2001.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, Larvras, v. 6, n. 2, p. 36-41, 2008.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3º ed, Viçosa: Ed. UFV, 2008. 421 p.
- FLORES, M. A. F.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; PAZOLINI, K.; POSSENTI, J. C.; PANOBIANCO, M. Criteria for implementation of a tetrazolium test in canola seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 37, n. 4, p. 222-227, 2015.

GAGLIARDI, B. **Procedimentos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de pimentão e relações com a emergência de plântulas**. 2009. 75f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade de São Paulo- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Piracicaba-SP. 2009.

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

GASPAR-OLIVEIRA, C. M.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de mamoneira (*Ricinus communis* L.) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 186-196, 2010.

LIMA, L. B.; PINTO, T. L. F.; NOVENBRE, A. D. L. C. Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de pepino pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 60-68, 2010.

LOPES, J. C.; PEREIRA, M. D. **Avaliação de tratamentos utilizados na superação de dormência em sementes de quiabo**. In: 44º Congresso Brasileiro de Olericultura, 2004, Campo Grande. Horticultura Brasileira. v. 22. p. 467, 2004.

MANZANO, M. D. **Estabelecimento e superação de dormência em sementes de *Erythrina speciosa* Andrews**. 2012. 77f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Instituto de Biociências de Botucatu. 2012.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed. Londrina: Abrates, 2015.

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.

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**, Cruz Alta, v. 8, n. 1, p. 66-74, 2013.

OLIVEIRA, A. P.; ALVES, A. U.; DORNELAS, C. S. M.; SILVA, J. A.; PORTO, M. L. Rendimento de quiabo em função de doses de nitrogênio. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 265-268, 2003.

OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; DAVIDE, A. C. Teste de Tetrazólio para Avaliação de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert Leguminosae-Caesalpinoideae. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 2, p. 159-166, 2005.

OLIVEIRA, R. D. L.; SILVA, M. B.; AGUIAR, N. D. C.; BÉRGAMO, F. L. K.; COSTA, A. S. V; PREZOTTI, L. Nematofauna associada à cultura do quiabo na região leste de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 88-93, 2007.

RIBEIRO, M. C. C. Tolerância do sabiá (*Mimosa caesalpiniae folia* Benth.) à salinidade durante a germinação e o desenvolvimento de plântulas. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 5 p. 123-126, 2008.

SANTOS, M. A. O.; NOVENBRE, A. D. L. C.; MARCOS FILHO, J. Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 35, n. 1, p. 213-223, 2007.

TORRES, S. T.; SILVA, F. G.; GOMES, M. D. A.; BENEDITO, C. P.; PEREIRA, F. E. C. B.; SILVA, E. C. Diferenciação de lotes de sementes de quiabo pelo teste de envelhecimento acelerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 12, p. 2103-2110. 2014.

SILVA, R. C.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; FRANÇA NETO, J. B.; PANOBIANCO, M. Adaptação do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v. 48, n. 1, p. 105-113, 2013.

SOUZA, C. S.; REIS, J. M. R.; MOREIRA, L. C. B. Avaliação de diferentes métodos para a quebra de dormência em sementes de espinafre. **Cerrado Agrociências**, Patos de Minas v. 21. n. 3, p. 44-51, 2012.

CAPÍTULO III

VIABILIDADE DE SEMENTES DE QUIABO AVALIADA PELO TESTE DE TETRAZÓLIO

RESUMO

SOUZA, Antônia Adailha Torres. **Viabilidade de sementes de quiabo avaliada pelo teste de tetrazólio**. 2016. 74f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2016.

As sementes de quiabo apresentam germinação lenta, tornando-se necessário o uso de testes que permitam verificar de forma rápida e confiável a sua viabilidade. Nesse sentido, o teste de tetrazólio apresenta-se como uma alternativa. No entanto, ainda não há procedimentos definidos deste teste para sementes de quiabo. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo determinar os procedimentos do teste de tetrazólio para a avaliação da viabilidade de sementes de quiabo. Para isso, quatro lotes de sementes de quiabo, cultivar Santa Cruz 47, foram adquiridos de empresas nacionais, safra 2013/2014. As sementes foram submetidas ao pré-condicionamento de imersão das sementes em álcool por 60 minutos, seguido de 18 horas de embebição em água destilada a 25 °C. Em seguida, as sementes foram seccionadas longitudinalmente, imersas em soluções de tetrazólio a 0,025; 0,050 e 0,075% por 60, 90 e 120 minutos e mantidas em estufa *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D.), a 35 e 40 °C. Ao término de cada período de coloração, as sementes foram lavadas em água corrente e avaliadas individualmente com o auxílio de uma lupa (6x) para classificação da viabilidade baseada na coloração (vermelho brilhante rosa ou vermelho carmim forte) das sementes. De forma paralela, foi instalado o teste de germinação, cujos resultados foram empregados como referência para o teste de tetrazólio. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 3 + 1, sendo três concentrações do sal de tetrazólio, três períodos de imersão e a testemunha. As médias de sementes viáveis do teste de tetrazólio foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância. Já a comparação entre as médias do teste de tetrazólio e o teste de germinação (testemunha) foi feita pelo teste de Dunnett a 5% de significância. Para todos os lotes avaliados, o teste de tetrazólio proporcionou viabilidade estimada semelhante ao de germinação. Portanto, o teste de tetrazólio foi eficiente para estimar a viabilidade em sementes de quiabo mediante hidratação das sementes por imersão direta em água por 18 horas a 25 °C, em solução de tetrazólio de 0,075% na temperatura de 35°C no tempo de 90 minutos.

Palavras-chave: *Abelmoschus esculentus*; testes rápidos; teste bioquímico.

ABSTRACT

SOUZA, Antonia Torres Adailha. **Okra seed viability assessed by tetrazolium test**. 2016 74p. Thesis (MS in Agronomy: Plant Science) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2016.

The okra seeds present slow germination, making it necessary to use tests to monitor quickly and reliably its viability. Accordingly, the tetrazolium test is presented as an alternative. However, there are no procedures established for this okra seeds' test. Thus, this study aimed to determine the tetrazolium test procedures for evaluating the viability of okra seeds. For this, four lots of okra seeds cv. Santa Cruz 47 were purchased from domestic companies, 2013/2014 harvest. The seeds were subjected to preconditioning soaking seeds in alcohol for 60 minutes followed by 18 hours of immersion in distilled water at 25 ° C. Then, the seeds were cut longitudinally, immersed in 0.025 tetrazolium salt; 0.050 and 0.075% for 60, 90 and 120 minutes and maintained in oven Biochemical Oxygen Demand (BOD) at 35 to 40 ° C. At the end of each staining period, the seeds were washed in running water and individually evaluated with the aid of a magnifying glass (6x) for viability classification based on color (red or bright pink red strong carmine) seeds. In parallel, the germination test was installed, and the results were used as reference to the tetrazolium test. The experiment was conducted in a completely randomized design, in a factorial 3 x 3 + 1, three concentrations of the tetrazolium salt, three periods of immersion and the witness. The averages of viable seeds tetrazolium test were compared by Tukey test at 5% significance level. The comparison between the means of the tetrazolium test and the germination test (control) was taken by Dunnett test at 5% significance level. For all batches evaluated, estimated tetrazolium test yielded similarly to germination viability. Therefore, the tetrazolium test was efficient to estimate the okra seeds' viability by hydration of the seeds by direct immersion in water for 18 hours at 25 ° C in 0.075% tetrazolium solution in 90 minutes.

Keywords: *Abelmoschus esculentus*; rapid tests; biochemical test.

1. INTRODUÇÃO

O quiabeiro [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench] é originário da África e, nos dias atuais, é amplamente cultivado em todas as regiões tropicas e subtropicais do mundo (SENGKHARPARN et al., 2009; BENCHASRI, 2012). No Brasil, é tido como uma espécie bastante importante do ponto vista socioeconômico, por ser basicamente cultivada pelos agricultores familiares, tendo utilidades diversas na culinária brasileira e medicinal (AMARO et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2013).

Devido à importância da cultura do quiabo, faz-se necessária a utilização de sementes de alta qualidade para obtenção de estande de plantas uniforme no campo e, com isso, maximizar a produção. Sendo assim, o meio de se verificar a qualidade fisiológica do lote de sementes é o teste de germinação. Entretanto, este teste apresenta como inconveniente o tempo de execução, 21 dias para informar os resultados (BRASIL, 2009), período considerado longo na tomada de decisões.

Outro agravante no tocante à cultura do quiabo é a presença de sementes duras, cuja impermeabilidade do tegumento faz com que estas permaneçam inalteradas, mesmo em condições favoráveis à germinação. Em decorrência desse fato, maiores quantidades de sementes durante a semeadura são utilizadas, havendo necessidade de debate e possível desuniformidade no estande de plantas (MARTINS; LOPES; MACEDO, 2011; SILVA et al., 2013).

Portanto, cada vez maior é a necessidade do aprimoramento dos testes destinados à avaliação da qualidade fisiológica de sementes, a fim de fornecer informações rápidas e consistentes, complementando as obtidas no teste de germinação. Neste sentido, o teste de tetrazólio vem sendo bastante utilizado nos programas de controle de qualidade com o objetivo de avaliar

a viabilidade das sementes de forma rápida e eficaz, principalmente as que apresentam dormência, ou espécies que germinam lentamente, como quiabo.

O teste de tetrazólio se baseia na atividade das enzimas desidrogenases presentes no processo respiratório dos tecidos vivos da semente. Durante a respiração das sementes, ocorre a liberação de íons hidrogênio (H^+), e quando estas são imersas na solução de tetrazólio os íons de hidrogênio são transferidos para o referido sal (2, 3, 5, trifenil cloreto de tetrazólio), reagem formando um composto insolúvel e estável de coloração avermelhada, denominado trifenilformazan, indicando haver atividade respiratória e, conseqüentemente, tecido viável (vivo). Já nos tecidos não viáveis (mortos), não ocorre reação com a solução, conservando a cor natural (AOSA, 2009).

Para que o teste de tetrazólio seja eficiente em avaliar a viabilidade das sementes, é necessário estabelecer procedimentos para cada espécie, pois estas apresentam variações, principalmente em termos da necessidade de pré-tratamentos, concentração, temperatura e do tempo de exposição na solução. De acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), a utilização do pré-umedecimento possibilita coloração mais uniforme, permitindo avaliação mais fácil. Além disso, as tonalidades das cores observadas nas sementes dão suporte à interpretação dos resultados e variam entre as espécies (ABREU et al., 2012). No entanto, Marcos-Filho (2015) ressalta que uma interpretação correta dos resultados do teste de tetrazólio depende do nível de treinamento do analista, sendo necessária atualização constante.

Procedimentos para a execução do teste de tetrazólio têm sido bastante estudados para sementes de diversas espécies cultivadas, como em soja (FRANÇA NETO et al., 1998), milho (CHAMMA; NOVENBRE, 2007), café (CLEMENTE et al., 2011), amendoim (SANTOS et al., 2012),

algodão (SANTANA, 2013), trigo (CARVALHO et al., 2013), sorgo (CARVALHO et al., 2014) e canola (FLORES et al., 2015). No entanto, para sementes de hortaliças, esse teste ainda é pouco pesquisado, conforme verificado por Barros et al. (2005) em abobrinha; por Bhering, Dias e Barros (2005) em melancia e por Lima, Pinto e Novembre (2010) em pepino. Todos esses autores reforçam que o teste apresenta condições para ser aprimorado e utilizado com êxito nas análises de rotina e nos programas de controle de qualidade da indústria de sementes de hortaliças.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi estabelecer critérios de procedimentos para avaliar a viabilidade de sementes de quiabo pelo teste de tetrazólio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, no período de janeiro a julho de 2015. Para isso, utilizaram-se quatro lotes de sementes de quiabo, cultivar Santa Cruz 47, adquiridos junto às empresas nacionais produtoras de sementes, safra 2013/2014. Durante a fase experimental, as sementes permaneceram embaladas em sacos de papel Kraft e armazenadas em câmara fria e seca (15°C e 50% de umidade relativa do ar).

Inicialmente, avaliaram-se quatro lotes de sementes de quiabo com potenciais fisiológicos distintos, os quais foram submetidos às seguintes avaliações:

Grau de umidade: realizado pelo método de estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas, com duas subamostras de cinco gramas de sementes por lote. O teor de água foi calculado na base do peso úmido de acordo com as recomendações de Brasil (2009). Teste de germinação: quatro repetições de 25 sementes, para cada lote, foram semeadas em bandejas tendo como substrato areia lavada e esterilizada, umedecida com água destilada na proporção de 60% da capacidade de campo. Esse teste foi conduzido sob temperatura alternada 20-30 °C e a contagem foi realizada aos 21 dias após a semeadura, sendo os resultados expressos em percentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

Para o teste de tetrazólio: inicialmente, a solução estoque foi preparada a 1,0%, misturando 10g do sal de tetrazólio para 1,0 litro de água destilada, acondicionada em um frasco de vidro de cor âmbar e protegido da ação da luz com papel alumínio. A partir desta solução, prepararam-se as

concentrações de 0,025%, 0,050% e 0,075%, sendo acondicionadas nos mesmos moldes da solução estoque e mantidas em geladeira.

Com base em procedimentos preliminares, identificou-se o mais adequado ao preparo das sementes, sendo adotado na condução deste estudo. Neste caso, a fase de hidratação ou pré-umedecimento das sementes de quiabo foi realizada com a imersão direta das sementes em álcool (98%) por uma hora, seguida de lavagem em água corrente e, novamente colocadas para embeber em 50 mL de água destilada e mantida em câmara do tipo *Biochemical oxygen demand* (B.O.D.) por 18 h, a 25 °C. A metodologia utilizada na etapa do pré-umedecimento foi definida a partir dos resultados obtidos durante a curva de absorção de água pelas sementes, apresentada no capítulo II.

Em seguida, com o auxílio de um bisturi, as sementes foram seccionadas longitudinalmente entre os cotilédones, obtendo-se duas partes do embrião. Estas foram imersas em solução de tetrazólio de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio, pH 6,5-7,0 de concentrações 0,025%, 0,05% e 0,075% pelos períodos de exposição 60, 90 e 120 minutos, sob temperaturas de 35 °C e 40 °C e ausência de luz. Para isso, utilizaram-se quatro repetições de 25 sementes para cada combinação de preparação da semente, concentração da solução e período de coloração, totalizando 9 tratamentos.

Ao término de cada período de coloração, a solução foi drenada, as sementes foram lavadas em água corrente e mantidas submersas em água em ambiente refrigerado até o momento da avaliação. As sementes foram avaliadas uma a uma com auxílio de lupas estereoscópica de mesa (6x) quanto à presença ou ausência de coloração e sua intensidade.

A diferenciação de cores dos tecidos das sementes foi verificada de acordo com os critérios estabelecidos para o teste de tetrazólio por França Neto (1999). As sementes viáveis apresentaram embriões com coloração

completamente rosa claro ou vermelho brilhante e extremidade da radícula sem coloração branca leitosa/amarelado. As sementes que apresentaram embriões com coloração completamente vermelho carmim/vermelho-intenso ou branco leitoso/amarelado, como também extremidade da radícula descolorida ou coloração vermelho-intenso, foram classificadas como inviáveis. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes viáveis.

Para efeito de comparação com os resultados do teste de tetrazólio, foi realizado o teste de germinação conforme descrito anteriormente. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Já para determinar os melhores procedimentos na condução do teste de tetrazólio, utilizou-se o delineamento experimental com arranjo fatorial $3 \times 3 + 1$, (três concentrações do sal de tetrazólio X três períodos de coloração + uma testemunha = teste de germinação) para cada lote, e avaliados de acordo com a porcentagem das categorias de sementes viáveis e inviáveis.

Para verificar a confiabilidade do teste de tetrazólio, compararam-se as médias dos testes de germinação com as porcentagens de viabilidade obtidas nos testes de tetrazólio. Assim, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F) e suas médias, comparadas pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o número de sementes viáveis obtidas no teste de tetrazólio, conduzido sob temperatura de 35 °C, verificou-se interação significativa ao nível de 1% de probabilidade entre os fatores concentração da solução (C) e período de coloração (P). Também foi verificado efeito significativo com o mesmo nível de probabilidade entre o fatorial e o tratamento testemunha para todos os lotes analisados (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância em sementes viáveis de quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, obtida do teste de tetrazólio em diferentes concentrações e períodos de coloração, a 35 °C, em comparação aos resultados do teste de germinação (testemunha).

Fontes de variação	Quadrados médios			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4
Período (P)	581,33**	1391,44**	439,11**	2686,33**
Concentração (C)	625,33**	394,11**	1309,78**	1849,33**
P x C	276,67**	2984,11**	420,44**	360,67**
Fatorial x Testemunha	1392,40**	2361,34**	751,11**	2016,40**
Tratamentos	545,82**	1985,43**	658,96**	1392,27**
Erro	20,67	33,97	44,89	14,73
Média	70,30	66,95	44,33	69,7
CV (%)	6,47	8,71	15,11	5,51

Fonte: Dados da pesquisa.

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

A concentração 0,075%, independentemente do tempo de exposição das sementes à solução, proporcionou maior porcentagem de sementes viáveis para o lote 1 (Tabela 2). Os resultados de sementes viáveis obtidos para essa mesma concentração durante o período de 90 minutos são concordantes com os do teste de germinação, tendo o lote 1 obtido 88% de germinação. A concentração de 0,025% no período de 60 minutos provocou

baixa porcentagem de viabilidade (43%) quando comparada com as demais concentrações e períodos de exposição.

Tabela 2. Médias de viabilidade de sementes de quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench] a partir do teste de tetrazólio conduzido em diferentes concentrações e períodos de coloração sob temperatura de 35 °C.

Concentrações de tetrazólio (%)			
Períodos (min)	0,025*	0,050	0,075
Lote 1			
60	43 bCy	65 aBy	73 aAy
90	68 aBy	68 aBy	79 aAx
120	74 aAy	69 aAy	76 aAy
Germinação (%)			88x
Lote 2			
60	35 bBy	74 aAy	82 aAx
90	75 aABy	70 aBy	82 aAx
120	74 aAy	69 aAy	19 bBy
Germinação(%)			90 x
Lote 3			
60	40 aAy	51 aAx	45 bAx
90	41 aBy	45 aAx	49 bAx
120	40 aBy	41 aBy	61 aAx
Germinação(%)			57 x
Lote 4			
60	34 cCy	43 bBy	74 bAy
90	60 bCy	74 aBy	86 aAx
120	79 aAy	72 aBy	85 aAx
Germinação(%)			91 x

Fonte: Dados da pesquisa.

*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.

As concentrações 0,025% por 60 minutos e 0,075% por 120 minutos proporcionaram ao lote 2 baixas porcentagens de sementes viáveis, 35 e 19%, respectivamente, decorrentes de uma coloração fraca e vermelha intensa para a maioria das sementes apontadas como inviáveis (Tabela 2). Ainda, verificou-se que a concentração de 0,075% nos períodos de 60 e 90 minutos resultou em estimativas semelhantes para os resultados do teste de germinação (testemunha -90%). Estes resultados são concordantes com os verificados por Lima, Pinto e Novembre (2010), em sementes de pepino (*Cucumis sativus* L.), quanto à eficiência da concentração do sal de tetrazólio a 0,075%, por 60 minutos.

Os resultados obtidos no lote 3 foram semelhantes aos do lote 1, em que a porcentagem de viabilidade foi maior na medida em que se aumentaram a concentração e o período de coloração das sementes, muito embora sem diferenças entre as concentrações 0,050 e 0,075% durante 90 minutos e 0,025 e 0,050% para o período de 120 minutos (Tabela 2).

Ainda com relação ao lote 3, verificou-se que as estimativas de viabilidade obtidas nas concentrações de 0,050 e 0,075% para os períodos de 60 e 90 minutos, assim como para 0,075% durante 120 minutos, não diferiram dos resultados do teste de germinação (testemunha = 57%), denotando viabilidade desses procedimentos para a avaliação da viabilidade de sementes de quiabo. Com isso, verificou-se coerência entre os resultados do teste de tetrazólio e o de germinação para os lotes 1, 2 e 4, com maior viabilidade e o lote 3 com menor viabilidade (Tabela 2).

Vale ressaltar que, dentre os lotes testados, o 3 apresentou o menor valor de viabilidade e menor germinação. Neste lote, constatou-se também maior quantidade de sementes em processo de deterioração, o que pode ter contribuído para sua baixa qualidade fisiológica.

Analisando o lote 4, verificou-se baixa estimativa de viabilidade das sementes quando submetido a concentração de 0,025%, pelos períodos de 60 e 90 minutos, e comparando com o período 120 minutos para a mesma concentração. Esse fato pode ser atribuído à fraca intensidade de coloração das sementes nessa condição.

Verifica-se que para as maiores concentrações de tetrazólio houve aumentos da estimativa de viabilidade das sementes nos períodos de 90 e 120 minutos. A maior concentração (0,075%) nos maiores períodos de tempo (90 e 120 minutos) proporcionaram maiores estimativas de viabilidade das sementes, não diferindo estatisticamente do teste de germinação (testemunha = 91%) (Tabela 2).

Vale destacar também que, para os quatro lotes estudados e na maioria dos períodos, os melhores resultados foram obtidos nas maiores concentrações, principalmente para a solução de concentração 0,075%. Resultados semelhantes foram obtidos por Bhering, Dias e Barros (2005) e Nery, Carvalho e Oliveira (2007), em sementes de melancia (*Citrullus Lunatus*), em que a concentração da solução de tetrazólio a 0,075% se mostrou adequada e permitiu uma avaliação mais consistente devido aos padrões de coloração mais uniformes.

Em girassol, quando se utilizou baixa concentração da solução, associado ao curto período de exposição à solução, também houve baixa viabilidade das sementes (SILVA et al., 2013), assemelhando-se aos resultados obtidos nos lotes 2 e 4.

Os dados da análise de variância para porcentagem de sementes viáveis no teste de tetrazólio, sob temperatura de 40 °C, estão apresentados na Tabela 3, verificando efeito significativo (1% de probabilidade) para os fatores concentração da solução de tetrazólio (C) e período de coloração (P), bem como para sua interação. Além disso, houve diferença entre as

estimativas de viabilidade das sementes obtidas pelo teste de tetrazólio e os resultados do teste de germinação, conforme pode ser observado pela significância do contraste testemunha *versus* fatorial.

Tabela 3. Resumo da análise de variância em sementes viáveis de quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, obtida do teste de tetrazólio em diferentes concentrações e períodos de coloração, a 40 °C, em comparação aos resultados do teste de germinação (testemunha).

Fontes de variação	Quadrados médios			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4
Período (P)	1134,78**	1160,78**	2809,33**	996,75**
Concentração (C)	432678**	2389,78**	1221,33**	569,49**
P x C	2016,44**	2266,44**	550,67**	59,46**
Fatorial x Testemunha	1913,61**	1813,51**	2560,00**	737,69**
Tratamentos	2322,50**	1997,82**	1424,89**	456,45**
Erro	12,50	18,80	46,49	16,81
Média	67,25	68,80	33,33	78,12
CV (%)	5,26	6,37	20,45	5,25

Fonte: Dados da pesquisa.

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Para a porcentagem de viabilidade das sementes do lote 1 oriundas do teste de tetrazólio, verificou-se que a combinação entre as concentrações e os períodos de coloração proporcionou variações de tonalidades, no tempo de 60 e 90 minutos. Estes, quando associados à concentração 0,025% foram considerados ineficientes para estimar a viabilidade de sementes de quiabo, provavelmente devido à pouca coloração dos tecidos e, em alguns casos,

pela falta de coloração, resultando em baixa porcentagem de sementes viáveis. Por outro lado, esses períodos quando associados às concentrações de 0,050 e 0,075% proporcionaram incrementos nas estimativas de viabilidade das sementes, embora sem diferenciação estatística (Tabela 4).

Tabela 4. Médias de viabilidade de sementes de quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47, a partir do teste de tetrazólio conduzido em diferentes concentrações e períodos de coloração sob temperatura de 40 °C.

Concentrações de tetrazólio (%)			
Período (min)	0,025	0,050	0,075
Lote 1			
60	20 cBy	75 bAy	73 aAy
90	27 bBy	77 bAy	77 aAy
120	84 aAx	82 aAx	63 bBy
Germinação(%)			88x
Lote 2			
60	68 bAy	67 bAy	67 bAy
90	82 aAx	74 bAy	77 aAy
120	82 aAx	82 aAx	10 cBy
Germinação (%)			90 x
Lote 3			
60	47 aAx	56 aAx	15 bBy
90	46 aAx	35 bAy	38 aAy
120	23 bAy	11 cBy	5 bBy
Germinação (%)			57 x
Lote 4			
60	69 bCy	77 abAy	75 bAy
90	57 cBy	71 bAy	75 bAy
120	83 aBx	83 aBx	91 aAx
Germinação(%)			91 x

Fonte: Dados da pesquisa.

*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 segundas 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.

Ainda com relação ao lote 1, verificaram-se maiores porcentagens de viabilidades no período de 120 minutos junto às concentrações de 0,025 e 0,050%. Assim, essas combinações promoveram coloração nítida dos embriões (Figura 1), facilitando a análise e interpretação dos resultados, sem diferir estatisticamente do teste de germinação (testemunha = 88%). Com relação ao efeito das concentrações para cada período de coloração, verifica-se que o aumento na concentração de tetrazólio resultou em aumento da estimativa de viabilidade para os períodos de 60 e 90 minutos, ao passo que para o maior período (120 minutos) o uso de concentração mais elevada (0,075%) provocou redução de viabilidade (Tabela 4).

No lote 2, a concentração de 0,025% proporcionou a avaliação da viabilidade nos períodos de 90 e 120 minutos, ao passo que na concentração de 0,050% só foi possível a avaliação no maior período de exposição (120 min), sendo os resultados dessas combinações semelhantes aos obtidos no teste de germinação (90%). Já a concentração de 0,075% não possibilitou a avaliação em nenhum dos períodos, destacando principalmente o período de 120 minutos (Tabela 4), o qual provocou média de viabilidade expressivamente baixa (10%) decorrente de uma coloração excessiva (Figura 2).

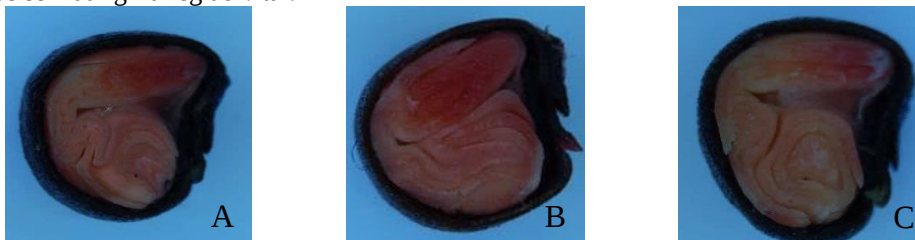
O lote 3, por ser menos vigoroso, apresentou grande número de sementes com coloração vermelho intenso (indicação de avançado grau de deterioração), só sendo possível avaliar a viabilidade de acordo com a germinação em tempos de coloração menores (60 e 90 minutos). A combinação de 120 minutos em todas as concentrações mostrou-se inadequada para avaliação da qualidade das sementes de quiabo, que apresentaram extensas manchas de coloração vermelho-intenso nos embriões, indicando excesso de tempo e forte concentração da solução de tetrazólio (Figura 2).

Outro aspecto verificado durante a análise do lote 3 foi a presença de trincas em algumas sementes, o que provavelmente facilitou a difusão da solução de tetrazólio para o interior destas. Tal ocorrência corrobora com as informações de Costa e Santos (2010), em que destaca a importância da adequada absorção de solução pelas sementes, pois estas, quando viáveis, tendem a absorver a solução lentamente, desenvolvendo coloração mais suave do que sementes deterioradas, as quais adquirem coloração rosa forte.

Para as sementes do lote 4, os resultados da estimativa de viabilidade das sementes foram maiores na medida em que aumentaram o período de coloração das sementes e a concentração da solução de tetrazólio. Dessa forma, os maiores valores de viabilidade foram obtidos para o período de 120 minutos associado à concentração de 0,075% (Tabela 4). Semelhantemente ao que ocorreu nesta pesquisa, Cervi e Mendonça (2009), em sementes de algodão, verificaram que a concentração de 0,075% da solução do sal de tetrazólio, a 40 °C e o tempo de 150 minutos de exposição foram adequados à coloração uniforme das sementes.

Com relação às temperaturas estudadas para adequação do teste de tetrazólio em sementes de quiabo, observou-se que as sementes, quando acondicionadas a 40 °C, tiveram sua viabilidade avaliada em menores concentrações (0,025 e 0,05%), demandando maior período de coloração (120 minutos). A temperatura de 35 °C proporcionou uma avaliação em menor tempo (90 minutos), necessitando, porém, de uma concentração mais alta (0,075%). Apesar de a temperatura de 40° C ter proporcionando a avaliação da viabilidade em concentrações menores, essa não se mostrou possível para todos os lotes. Sendo assim, a temperatura de 35° C mostra-se mais eficiente para avaliação de sementes de quiabo em menor período de tempo.

Figura 1. Sementes viáveis de quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47: (A) sementes com coloração rosa claro uniforme, tecidos com aspecto normal e firme sem lesões do embrião; (B) embrião cor de rosa brilhante, com pequenas áreas ou pontos com coloração mais intensa; (C) ou com pequenos pontos deteriorados, mas sem atingir a região vital.



Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 2. Sementes não viáveis de quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench], cultivar Santa Cruz 47: (A) sementes com mais de 50% dos cotilédones com coloração vermelho intenso; (B) descoloridos ou necrosados apresentando eixo embrionário com coloração vermelho intenso; (C) cotilédones com coloração vermelho intenso e regiões descoloridas atingindo o cilindro central.



Fonte: Dados da pesquisa.

4. CONCLUSÃO

O teste de tetrazólio é eficiente para estimar a viabilidade em sementes de quiabo mediante hidratação das sementes por imersão direta em água por 18 horas a 25 °C, em solução de tetrazólio de 0,075%, no tempo de 90 minutos e na temperatura de 35°C.

REFERÊNCIAS

- ABREU, D. C. A.; MEDEIROS, A. C. S.; AGUIAR, I. B.; BANZATTO, D. A. Teste Topográfico de tetrazólio em sementes de pinheiro-brasileiro (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze). In: **4º Congresso Florestal Paranaense**, Curitiba, 2012.
- AMARO, G. B.; SILVA, D. M.; MARINHO, A. G.; NASCIMENTO, W. M. **Recomendações técnicas para o cultivo de hortaliças em agricultura familiar**. Embrapa Hortaliças Brasília – DF: Embrapa Hortaliças, 2007. Páginas16 (Circular Técnica, 47).
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS – AOSA. **Seed vigour testing handbook**. East Lansing: AOSA, 2009.
- BARROS, D. I.; DIAS, D. C. F. S.; BHERING, M. C.; DIAS, L. A. S.; ARAÚJO, E. F. Uso do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de abobrinha. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v. 27, n. 2 p. 165-171. 2005.
- BENCHASRI, S. Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) as a valuable vegetable of the world. **Ratarstvo Vegetable Crops Research**, v. 42, p. 105-112, 2012.
- BHERING, M. M.; DIAS, D. C. F. S.; BARROS, D. I. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 176-182, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009.
- CARVALHO, T. C.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; OHLSON, O. C.; PANOBIANCO, M. Adaptation of the tetrazolium test method for estimating the viability of sorghum seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 36, n. 1, p. 246-252, 2014.
- CARVALHO, T. C.; KRZYZANOWSKI, F. C. S.; OHLSON, O. C. PANOBIANCO M. Tetrazolium test adjustment for wheat seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina v.35, n.3, p.361-367, 2013.
- CHAMMA, H. M. C. P.; NOVEMBRE, A. D. L. C. Teste de tetrazólio para as sementes de milho: períodos de hidratação e de coloração das sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 125-129, 2007.

CERVI, F.; MENDONÇA, E. A. F. Adequação do teste de tetrazólio para sementes de algodoeiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.31, n.1, p.177-186, 2009.

CLEMENTE, A. C. S.; CARVALHO, M. L. M.; GUIMARAES, R. M.; ZEVIANI, W. M. Preparo das sementes de café para avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 38-44, 2011.

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.

FLORES, M. A. F.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; PAZOLINI, K.; POSSENTI, J. C.; PANOBIANCO, M. Criteria for implementation of a tetrazolium test in canola seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 37, n. 4, p. 222-227, 2015.

FRANÇA NETO, J. B. Testes de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRZYŻANOWSKI, F.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (org.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. x-y.

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

LIMA, L. B.; PINTO, T. L. F.; NOVENBRE, A. D. L. C. Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de pepino pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 60-68, 2010.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed. Londrina: Abrates, 2015.

MARTINS, C. A. S.; LOPES, J. C.; MACÊDO, C. M. P. Tratamentos pré-germinativos em sementes de quiabo em diferentes estádios de maturação do fruto. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 1759-1770, 2011.

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.

OLIVEIRA, A. P.; OLIVEIRA, A. N.; SILVA, O. P. R.; PINHEIRO, S. M.; GOMES NETO, A. D. Rendimento do quiabo adubado com esterco bovino e biofertilizante. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 2629-2636, 2013.

SANTANA, B. A. **Preparo das sementes de algodoeiro para o teste de tetrazólio**. 2013. 65f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Piracicaba-SP, 2013.

SANTOS, J. F.; SANCHES, M. F. G.; BARBOSA, R. M.; LEÃO, E. F.; VIEIRA, R. D. Optimising tetrazolium test procedures to evaluate the physiological potential of peanut seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.40, n. 2, p. 215-228, 2012.

SENGKHAMPARN, N.; VERHOEF, R., SCHOLS, H. A., SAJJAANANTAKUL, T., VORAGEN, A. G. J Characterization of cell wall polysaccharides from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). **Carbohydrate Research**, v. 344, p. 1824-1832, 2009.

SILVA, L. R. A.; SILVA, W. B.; SILVA, G. M. C.; BARROS, F. R.; GOMES, E. R.; SILVA, M. R. T.; SETÚBAL, J. W. Avaliação de crescimento de plântulas de quiabeiro em diferentes substratos. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Garça, v. 24, n. 2, p. 63-68, 2013.

SILVA, R. C.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; FRANÇA-NETO, J. B.; PANOBIANCO, M. Adaptação do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 1, p. 105-113, 2013.