

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JULIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DO**  
**POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE AMENDOIM**

**Juliana Faria dos Santos**

Bióloga

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JULIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DO**  
**POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE AMENDOIM**

Juliana Faria dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Roberval Daiton Vieira

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2012

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**JULIANA FARIA DOS SANTOS** – nascida em 10 de julho de 1986, na cidade de São Paulo, SP. Possui graduação em Ciências Biológicas (2009), modalidade Licenciatura e Bacharelado, pela Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto, SP. Durante a graduação, exerceu atividades de monitoria nas disciplinas de Morfologia e Fisiologia Vegetal (janeiro a dezembro de 2007) e desenvolveu projetos na área de Botânica, com ênfase em Fisiologia Vegetal (agosto de 2006 a dezembro de 2007), e em Educação, para obtenção do grau de Licenciatura em Ciências Biológicas (2008). Desenvolveu seu trabalho de conclusão de curso na área de Produção e Tecnologia de Sementes, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal, SP, com Bolsa de Iniciação Científica da FAPESP – Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (março de 2009 a janeiro de 2010), obtendo grau de Bacharel em Ciências Biológicas em 2009. Em março de 2010, ingressou no curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), pela UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, sob orientação do Prof. Dr. Roberval Daiton Vieira, como bolsista FAPESP, de março de 2010 a fevereiro de 2012.

***“Ainda que eu fale a língua dos homens e dos anjos  
ou tenha em mim tamanha fé que consiga transportar os montes,  
se eu não tiver amor nada serei.”***

*Hino “Deus é Amor” - Asaph Borba*

*Aos meus pais maravilhosos, **Nilza e Edson**,  
por serem tudo o que é mais precioso em minha vida,  
por terem me ensinado tudo o que sei,  
pelo apoio em todos os momentos e pelo amor incondicional.*

**Dedico**

*Ao meu orientador, **Prof. Dr. Roberval Daiton Vieira**,  
por ter aberto as portas de um futuro diferente  
e por confiar sempre em minha capacidade.*

**Ofereço**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por ter concedido-me tudo que tenho e tudo que sou, por abençoar-me e guiar-me por Seu caminho, sem desamparar-me.

Aos meus pais, Edson Lambert dos Santos e Nilza Aparecida Faria, meus exemplos de vida, que me amam mais que incondicionalmente, pelo incentivo, dedicação, apoio, compreensão, carinho e educação. À minha mãe, em especial, por ter dado-me força e auxiliado-me diretamente em meu projeto, e ao meu pai, que apesar da saudade enorme que sinto, mesmo com a distância física faz-se sempre presente. Amo vocês!

À minha família em geral, bisavós e avós (aos presentes e aos que já se foram e deixam saudade), tios e primos, por entenderem minhas ausências e mesmo assim apoiar-me, amar-me e torcer sempre por mim.

Ao meu companheiro de todos os momentos, Maurício Feis Ganz Sanches, por dividir comigo seu amor, carinho, compreensão e amizade, e pela felicidade que me proporciona. Não consigo colocar em palavras o que significa para mim.

Ao meu admirado orientador, Prof. Dr. Roberval Daiton Vieira, pelos ensinamentos e conselhos, pela atenção, paciência, confiança, amizade e por todo o apoio e suporte dado durante esses três anos de convivência.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela concessão da bolsa de estudos e viabilização da pesquisa e à COPLANA (Cooperativa dos Plantadores de Cana da Zona de Guariba) pelo fornecimento dos lotes de sementes de amendoim.

A todos os professores que fizeram parte do meu caminho, desde o ensino básico, passando pelo fundamental e médio, pelo cursinho e durante os cinco anos de graduação e os dois anos de mestrado, que contribuíram imensamente para minha formação e crescimento.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal, Carlos Alberto, Lázaro, Mauro, Mônica e Rubens, pela colaboração na realização da pesquisa ou pelo simples convívio nesses anos.

Aos membros participantes do exame geral de qualificação e da banca examinadora de defesa, Dr. Bruno Guilherme Torres Licursi Vieira, Dra. Carla Gomes Machado e Dr. Rinaldo Cesar de Paula, pelas sugestões enriquecedoras.

Às minhas grandes amigas, Elaine Dias, Esther Cunha, Fernanda Martins, Larissa Tonin, Luisa Nose, Maria Paula Poiatti, Melina Maset, Naisa Cruz e Priscila Vicentin, sempre prontas e dispostas a me ouvir. Aos meus primos, Melissa e Ulysses, os irmãos que nunca tive, pelos momentos especiais que sempre passamos juntos, por tudo o que representam para mim. Poucos são os encontros, mas todos estão guardados em meu coração.

Aos amigos e companheiros da UNESP, Câmpus de Jaboticabal Arthur Batoqui, Bruno Vieira, Carimi Cortêz, Carlos Caprio, Claudia Denise, Clíssia Barboza, Cristiane Bota, Érica Leão, Felipe Batistela, Gisele Batista, Giselle Barbosa, Magnólia Lopes, Mariana Rosa, Rafael Marani e Victor Catelli, pela convivência, amizade, companheirismo, colaboração e pelos ótimos momentos que passamos juntos.

A todos aqueles que de algum modo contribuíram para esta conquista, não tenho palavras para agradecer.

**Muito obrigada!**

## SUMÁRIO

	Página
<b>RESUMO .....</b>	<b>ix</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>x</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. A Cultura do Amendoim .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2. Anatomia da Semente de Amendoim .....</b>	<b>4</b>
<b>2.3. Avaliação do Potencial Fisiológico de Sementes .....</b>	<b>5</b>
<b>2.4. Teste de Tetrazólio .....</b>	<b>7</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>10</b>
<b>3.1. Teor de Água .....</b>	<b>11</b>
<b>3.2. Germinação (Substrato Papel) .....</b>	<b>11</b>
<b>3.3. Germinação (Substrato Areia) .....</b>	<b>11</b>
<b>3.4. Vigor – Envelhecimento Acelerado .....</b>	<b>11</b>
<b>3.5. Vigor – Condutividade Elétrica .....</b>	<b>12</b>
<b>3.6. Emergência de Plântulas em Campo .....</b>	<b>12</b>
<b>3.7. Curva de Embebição em Água (Copo) .....</b>	<b>12</b>
<b>3.8. Curva de Embebição em Água (Papel) .....</b>	<b>13</b>
<b>3.9. Teste de Tetrazólio .....</b>	<b>13</b>
<b>3.9.1. Primeira Etapa .....</b>	<b>13</b>
<b>3.9.2. Segunda Etapa .....</b>	<b>15</b>



<b>3.10. Procedimento Estatístico .....</b>	<b>15</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>6. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>38</b>

## TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE AMENDOIM

**RESUMO** – O teste de tetrazólio assume posição de destaque na avaliação do potencial fisiológico de sementes, devido ao grande número de informações fornecidas. Entretanto, a eficiência desse teste está relacionada a procedimentos apropriados e, para o amendoim, a técnica aplicada não está totalmente adequada, pois cultivares distintos podem apresentar respostas diferenciadas. Esta pesquisa objetivou adequar o teste de tetrazólio para sementes de amendoim. Oito lotes de sementes de amendoim, quatro do cv. IAC Tatu ST e quatro do Runner IAC 886, foram avaliados pelos testes de germinação, vigor (envelhecimento acelerado e condutividade elétrica) e emergência de plântulas em campo. Para o teste de tetrazólio, as sementes foram submetidas ao pré-condicionamento a 25 °C por três, seis, nove, 12 e 16 horas (embebição direta em água - copo) e por 16 e 24 horas (embebição em papel umedecido). Após determinação do melhor período, as sementes foram preparadas com tegumento, sem tegumento e com cotilédones separados, sendo imersas em solução de tetrazólio 0,05; 0,075; 0,1 e 0,2%, a 40 °C, por duas horas. O melhor período de pré-condicionamento foi o de 16 horas (copo). A solução de tetrazólio 0,05% para o cv. IAC Tatu ST em todos os preparos permitiu maior diferenciação entre lotes e para o cv. Runner IAC 886 as concentrações 0,075% em sementes com tegumento e com cotilédones separados e 0,2% para sementes sem tegumento foram as melhores. Assim, o teste de tetrazólio para sementes de amendoim deve ser conduzido com pré-condicionamento por 16 horas diretamente em água, preparo sem tegumento com imersão em solução de tetrazólio 0,05%, para cv. IAC Tatu ST, e preparo com cotilédones separados e imersão em solução 0,075%, para cv. Runner IAC 886.

**Palavras-Chave:** *Arachis hypogaea* L., adequação de procedimentos, tetrazólio, viabilidade, vigor

## TETRAZOLIUM TEST AS A PROCEDURE TO EVALUATE THE PHYSIOLOGICAL POTENTIAL OF PEANUT SEEDS

**SUMMARY** – The tetrazolium test stands out in the physiological assessment of the seeds, given the large number of information provided. However, the efficiency of this test is related to accurate procedures and for peanut seeds, the applied technique is not entirely appropriate, since different cultivars may have different responses. This study aimed to adjust the tetrazolium test for peanut seeds. Eight lots of peanut seeds, four of the cv. IAC Tatu ST and four of the Runner IAC 886, were evaluated by germination, vigor (accelerated aging and electrical conductivity) and seedling emergence in the field tests. For tetrazolium test, seeds were submitted to preconditioning at 25 °C for three, six, nine, 12 and 16 hours (immersed directly in water - cup) and for 16 and 24 hours (moistened germination paper). After determining the best preconditioning period, seeds with and without seedcoat and with separated cotyledons were submitted to staining in 0.05%, 0.075%, 0.1% and 0.2% tetrazolium solutions at 40 °C for two hours. The best preconditioning period was 16 hours (cup). For cv. IAC Tatu ST, 0.05% tetrazolium solution permitted a greater differentiation between seed lots. For cv. Runner IAC 886, staining seeds with seedcoat and with separated cotyledons in 0.075% tetrazolium solution and seeds without seedcoat in 0.2% solution promoted better results. Thus, the tetrazolium test for peanut seeds should be conducted with 16 hours of preconditioning directly in water, without seedcoat followed by staining in 0.05% tetrazolium solution for cv. IAC Tatu ST, and with separated cotyledons and staining in 0.075% tetrazolium solution for cv. Runner IAC 886.

**Keywords:** *Arachis hypogaea* L., procedures adjustments, tetrazolium, viability, vigor

## 1. INTRODUÇÃO

Considerada o insumo agrícola mais importante, a semente conduz ao campo características genéticas determinantes do desempenho da cultura e contribui decisivamente para o sucesso do estabelecimento de estande uniforme. Assim, a utilização de sementes com alto potencial fisiológico influi diretamente na obtenção de altos níveis de produtividade em espécies cultivadas.

A semente de amendoim, devido às suas características químicas de riqueza em óleo e proteína e às condições de cultivo predominantes no Brasil, pode apresentar baixo potencial fisiológico (NAKAGAWA et al., 1983) e a adoção de alta tecnologia é necessária durante todo o processo de produção e comercialização dessa cultura, diminuindo os riscos que podem levar à perda desse potencial.

A avaliação do potencial fisiológico é um parâmetro importante a ser considerado em um programa de produção de sementes e testes que fornecem resultados rápidos sobre o mesmo são demandados para agilizar decisões nas diferentes etapas do processo produtivo (BHERING et al., 2005). Assim, o uso de testes que avaliem a viabilidade e o vigor de sementes de forma rápida, permitindo maior diferenciação entre lotes, é necessário e constitui-se em um dos desafios para a pesquisa sobre o potencial de desempenho de sementes, a fim de evitar-se ou diminuir os prejuízos pela utilização de sementes com baixo potencial germinativo.

Nesse sentido, o teste de tetrazólio assume posição de destaque no controle da qualidade de sementes por fornecer informações sobre viabilidade e vigor, além de possibilitar a diagnose dos principais problemas que podem afetar o potencial fisiológico das sementes. Entretanto, o ajuste dos procedimentos para cada espécie, de modo a definir as condições mais apropriadas para o pré-condicionamento, preparo e coloração das sementes, é essencial para obtenção de resultados precisos.

No caso do amendoim, alguns trabalhos objetivaram o estudo de procedimentos para avaliação do potencial fisiológico de sementes utilizando-se o teste de tetrazólio (BITTENCOURT & VIEIRA, 1997 e 1999; BITTENCOURT et al., 1997; CARVALHO et al., 2009). Entretanto, de acordo com VIEIRA et al.<sup>1</sup> (dados não publicados), que

---

<sup>1</sup>VIEIRA, B. G. T. L.; LEONEL, C. L.; VIEIRA, R. D. Vigor de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) avaliado pelo teste de tetrazólio.

trabalharam com sementes de cultivar do grupo Virgínia, a técnica até então aplicada ainda não está totalmente adequada para a avaliação do potencial fisiológico de sementes dessa cultura, uma vez que cultivares de grupos botânicos distintos podem apresentar respostas diferentes aos procedimentos já estabelecidos.

Diante do exposto, a presente pesquisa teve como objetivo adequar o teste de tetrazólio para a cultura do amendoim, considerando critérios de pré-condicionamento, preparo e coloração, para obtenção de resultados mais consistentes tanto para o cultivar IAC Tatu ST, grupo Valência, quanto para o Runner IAC 886, cultivar do grupo Virgínia, este ainda não estudado adequadamente com relação a esse teste.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. A Cultura do Amendoim

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma planta de origem sul-americana e apresenta grande importância econômica devido ao fato de seus grãos possuírem sabor agradável e serem ricos em óleo e proteínas (LOURENZANI & LOURENZANI, 2009). No Brasil, o cultivo dessa espécie teve posição de destaque no cenário agrícola principalmente na década de 60 e 70, com a produção e a exportação de óleo comestível e farelo (JOÃO, 2008).

São Paulo é o principal estado produtor de amendoim, sendo responsável por cerca de 80% da produção nacional e 70% do total da área plantada (MARTINS, 2008; CONAB, 2010). Duas regiões do estado destacam-se na produção de amendoim, a Alta Mogiana (Ribeirão Preto e Jaboticabal) e a Alta Paulista (Marília e Tupã), nas quais a cultura é produzida em áreas de renovação de canaviais e pastagens (NAKAGAWA & ROSOLEM, 2011; BARBOSA, 2011).

O bom desenvolvimento da cultura nesse estado deve-se às boas condições de solo e clima, o que possibilita o cultivo em duas épocas: a safra das águas e a safra da seca, sendo a produção na primeira safra superior à da segunda, por ser realizada em período climático mais favorável à cultura (NAKAGAWA & ROSOLEM, 2011).

A produção brasileira total de amendoim no período compreendido entre 2008 e 2010 ficou em torno de 830 mil toneladas de amendoim em casca para uma área plantada de 314 mil hectares (MARTINS, 2011). Segundo previsões e estimativas de safra da Companhia Nacional de Abastecimento, no ano agrícola de 2010/11, a produção de amendoim (1ª e 2ª safra) ficou em torno de 227 mil toneladas e a área plantada em 85 mil hectares, valores que apontam rendimento de 2.670 kg/ha (CONAB, 2011).

A cultura do amendoim possui dois grupos botânicos de grande importância, o grupo Valência e o grupo Virgínia, que apresentam diferenças significativas quanto a características vegetativas e reprodutivas, como duração do ciclo, hábito de

crescimento, sistema de ramificação, número vagens por planta e de sementes por vagem, tamanho da semente, entre outros (NAKAGAWA & ROSOLEM, 2011).

O cultivar IAC Tatu ST, pertencente ao grupo Valência, é precoce (90 a 100 dias de ciclo), de porte ereto, com vagens granadas contendo duas a três sementes de tegumento avermelhado. O cultivar Runner IAC 886, grupo Virgínia, apresenta hábito de crescimento rasteiro, ciclo de 130 dias e vagens uniformes contendo uma a duas sementes de película rosada que podem apresentar dormência leve ou acentuada (GODOY et al., 2003). Com a introdução de novas tecnologias para o cultivo de amendoim, os cultivares de porte ereto foram substituídos pelos de porte rasteiro, que passaram a ser preferidos por produtores, especialmente em áreas de reforma de canavial (BARBOSA, 2011).

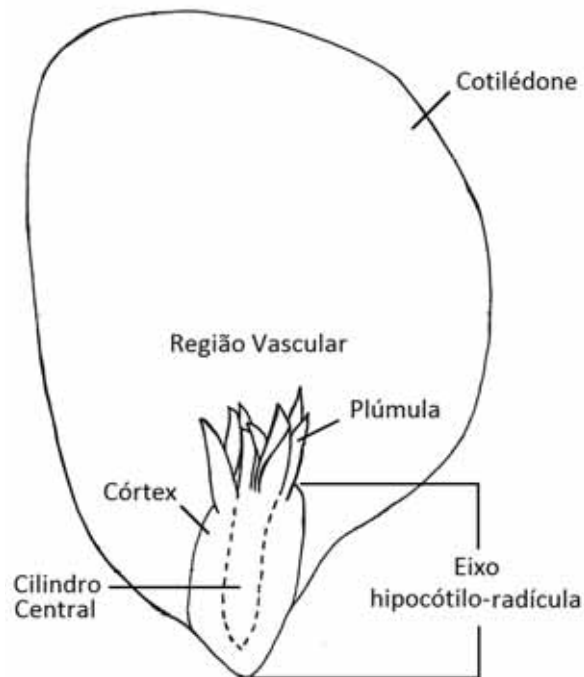
## **2.2. Morfologia da Semente de Amendoim**

As sementes de amendoim são constituídas por tegumento de coloração variável, dependendo do cultivar em questão, e embrião do tipo axial, sendo este dividido em cotilédones e eixo embrionário. Os cotilédones são justapostos, grandes e volumosos, ricos em material de reserva (lipídeos e proteínas) e auriculados na base (YARBROUGH, 1949; NAKAGAWA & ROSOLEM, 2011) (Figura 1). Estes fornecem reservas ao eixo embrionário e, à medida que a plântula desenvolve-se, são exauridos e perdem completamente sua função após a formação e atividade das folhas definitivas (MARCOS FILHO, 2005).

Abaixo do ponto de inserção dos cotilédones, situa-se o eixo hipocótilo-radícula, assim denominado devido às estruturas serem pouco diferenciadas (Figura 1). Esse eixo é constituído de epiderme, córtex e cilindro central, sendo que este último corresponde ao sistema vascular (BITTENCOURT, 1995). O hipocótilo representa o elo entre a radícula e a plúmula, caracterizando-se como região de transição. Durante a germinação, a plúmula dá origem à parte aérea da planta, atuando como gema apical e a radícula origina o sistema radicular (MARCOS FILHO, 2005) (Figura 1).

O eixo hipocótilo-radícula projeta-se para o exterior da semente, próximo à superfície basal dos cotilédones, juntamente com o tegumento fino e frágil, fazendo com que a região da radícula seja altamente vulnerável a injúrias mecânicas, sobretudo durante a operação de descasque e demais operações do processamento das sementes, as quais predisõem a semente a subsequente deterioração fisiológica (KETRING et al., 1982; SADER et al., 1991).

A plúmula é bem desenvolvida, constituída por seis a oito folhas embrionárias, número variável em função do genótipo, que irão expandir-se por ocasião da germinação, aumentando de tamanho (YARBROUGH, 1949; CONAGIN, 1957; NAKAGAWA & ROSOLEM, 2011) (Figura 1).



**Figura 1.** Morfologia da semente de amendoim (*Arachis hypogaea*). Fonte: BITTENCOURT & VIEIRA (1999).

### 2.3. Avaliação do Potencial Fisiológico de Semente

A utilização de sementes de alta qualidade é uma das formas de obter-se elevada produtividade, uma vez que, ao serem semeadas em campo, as sementes têm



atributos que capacitam o desenvolvimento da plântula e o estabelecimento de estande adequado em diferentes condições climáticas. Assim, a avaliação do potencial fisiológico de sementes deve ser efetuada de forma que permita a identificação de lotes que apresentem maior probabilidade de estabelecer-se em campo e proporcionar o retorno esperado (MARCOS FILHO, 2005).

O teste de germinação é internacionalmente aceito para estimar o potencial fisiológico de sementes (BAALBAKI et al., 2009), entretanto, é um teste demorado, que inviabiliza a rápida tomada de decisões. Na produção de sementes, é importante que se avalie a qualidade durante as operações de colheita, recepção, beneficiamento e comercialização, permitindo decisões antecipadas e diminuindo riscos de perdas e, conseqüentemente, prejuízos.

De acordo com MORAES (1987), em amendoim, outra limitação do teste de germinação é a vasta gama de agentes patogênicos, principalmente fungos, que pode estar interna e, ou externamente associada à semente, interferindo negativamente nos resultados.

O teste de germinação, pelas condições essencialmente favoráveis de sua condução também não detecta diferenças sutis em termos de deterioração e não avalia o potencial de armazenamento e o desempenho das sementes em condições gerais de campo, porém, fornece dados que podem ser utilizados juntamente com outras informações para a comparação entre lotes de sementes (MARCOS FILHO, 2005).

Assim, é interessante a utilização de testes que avaliam o vigor de sementes. Estes têm como principal objetivo identificar diferenças no potencial fisiológico entre lotes, principalmente entre aqueles que apresentam desempenho germinativo semelhante e dentro de padrões comercialmente aceitos (VIEIRA et al., 1994).

Os testes de vigor devem permitir a distinção entre lotes de alto e baixo vigor e indicar os que apresentam maior ou menor probabilidade de bom desempenho sob diferentes condições ambientais. Além disso, devem ser confiáveis, comparáveis, rápidos, simples, economicamente viáveis e apresentam correlação com a emergência de plântulas em campo (MARCOS FILHO, 1999; BAALBAKI et al., 2009).

## 2.4. Teste de Tetrazólio

O desenvolvimento de testes rápidos, visando à determinação do potencial fisiológico de sementes, tem sido um dos principais objetivos dos tecnologistas de sementes há vários anos (CERVI & MENDONÇA, 2009). Muitos testes baseados na observação da coloração, do aspecto e da velocidade de embebição das sementes foram inicialmente utilizados, visando à rápida avaliação da viabilidade das mesmas, porém sem nenhuma precisão. Diversos corantes foram estudados, mas também a falta de precisão resultou no insucesso da adoção de tais métodos (FRANÇA NETO & KRZYZANOWSKI, 2009).

As primeiras tentativas que apresentaram sucesso na avaliação da viabilidade de semente com biocorantes foram realizadas por Turina que, em 1922, verificou que as células vivas de sementes viáveis eram capazes de reduzir soluções incolores de sais de telúrio e selênio para tons avermelhados ou cinza-escuros (MARCOS FILHO, 2005).

Em 1940, Lakon aperfeiçoou o método do selênio, desenvolvendo o método topográfico deste mesmo sal para a determinação da viabilidade de sementes. Entretanto, ao descobrir os efeitos tóxicos do selênio aos analistas de semente, Lakon procurou um sal similar que poderia ser utilizado com a mesma finalidade. Após a indicação por Kühn e Jerchel, em 1941, Lakon testou diversos compostos de tetrazólio que poderiam reduzir-se em tecidos vivos e constatou que o 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio era o mais apropriado para o teste topográfico (FRANÇA NETO, 1999). Assim, Georg Lakon pode ser considerado o principal responsável pelo desenvolvimento do teste de tetrazólio.

Nos últimos anos, a metodologia do teste de tetrazólio tem sido aprimorada, principalmente no que se refere à determinação do índice de vigor, tornando o teste muito mais atrativo para sementes de algumas culturas, como milho, algodão, feijão, amendoim e soja (FRANÇA NETO, 1999).

A fundamentação do teste baseia-se na alteração da coloração dos tecidos vivos da semente em presença de solução de sal de tetrazólio, refletindo a atividade do sistema de enzimas desidrogenases, intimamente relacionado à viabilidade da

semente. A difusão da solução nos tecidos da semente resulta na formação de composto estável e não-difusível de coloração avermelhada, conhecido por formazan, o que permite delimitar, de maneira definida, o tecido vivo do que apresenta atividade fisiológica deficiente e, ou morto, pois este permanece descolorido ou exibe coloração anormal (PIÑA-RODRIGUES et al., 2004; MARCOS FILHO, 2005), como a semente deteriorada ou danificada mecanicamente.

A obtenção de resultados satisfatórios no teste de tetrazólio está diretamente relacionada à metodologia de execução do mesmo, como o pré-condicionamento, preparo das sementes, concentração da solução de tetrazólio, período e temperatura de exposição à solução e ao estabelecimento de critérios complementares para a avaliação e interpretação (GASPAR-OLIVEIRA et al., 2009; HOSOMI et al., 2011). Dependendo da espécie estudada, algumas etapas podem estar ausentes, como é o caso de sementes pequenas de leguminosas e de alguns outros gêneros que não requerem preparo, podendo ser colocadas diretamente na solução de tetrazólio (FRANÇA NETO et al., 1998).

O umedecimento como pré-condicionamento facilita a absorção da solução de tetrazólio e é necessário para algumas espécies, pois sementes pré-umedecidas são menos suscetíveis a danos por embebição e teores de água mais elevados permitem corte e perfurações com maior facilidade, visando a exposição do embrião à solução de tetrazólio (BRASIL, 2009). Alguns cultivares de soja apresentam sensibilidade à rápida embebição quando o teor de água é inferior a 10% (SILVA & VILLELA, 2011).

No caso do amendoim, o comportamento quanto ao baixo teor de água parece não seguir o mesmo padrão, uma vez que, durante o armazenamento em baixa umidade relativa do ar, o teor de água é reduzido para valores entre 6 e 8% e não se tem relatos de dano por embebição para essas sementes. Esse comportamento pode estar relacionado ao tegumento da semente que, embora delgado, apresenta alta resistência a penetração de água, tendo em vista sua constituição morfológica e química.

A técnica apresentada para o teste em amendoim nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) propõe como pré-condicionamento a embebição entre papel

durante 16 ou 18 horas em temperatura de 20 ou 25 °C, respectivamente, e como preparo antes da coloração a retirada ou não do tegumento. Além disso, a concentração da solução de tetrazólio apresentada é de 0,075 a 1%, dependendo do pré-condicionamento realizado.

Objetivando adaptar o teste de tetrazólio para amendoim, BITTENCOURT et al. (1997) testou diversas temperaturas e períodos para o pré-condicionamento de sementes do cultivar Tatu 53, e concluiu que estas deveriam alcançar teor de água acima de 30% para que a coloração fosse uniforme, possibilitando a avaliação correta, e que o período de 16 horas a 20 °C era o ideal.

A remoção ou não do tegumento para o preparo antes da coloração das sementes também foi alvo de estudos (BITTENCOURT & VIEIRA, 1997). Essa operação de retirada do tegumento possibilitou a redução do período de coloração e da concentração da solução de tetrazólio utilizada. Entretanto, para CARVALHO et al. (2009), apenas a remoção não é suficiente para que os cotilédones separem-se e exponham as faces internas e o eixo embrionário, dificultando a coloração destes e a interpretação correta dos resultados.

Com base no exposto, o teste de tetrazólio mostra-se como alternativa eficiente para avaliar o vigor, a viabilidade e permite determinar alguns dos fatores envolvidos na perda da qualidade de um lote de sementes. Contudo, esses objetivos são atingidos apenas se houver disponibilidade de métodos eficientes e padronizados.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, no período de outubro de 2010 a novembro de 2011.

Foram utilizadas sementes de amendoim provenientes de quatro lotes de cada um dos cultivares, IAC Tatu ST (grupo Valência) e Runner IAC 886 (grupo Virgínia), safra 2010/11, obtidas junto à Unidade de Grãos da Cooperativa dos Plantadores de Cana da Zona de Guariba (COPLANA), localizada no município de Jaboticabal, SP, ao Instituto Agrônômico de Campinas (IAC) e ao produtor Ademir Caldo. Após a recepção e identificação, os lotes do cultivar IAC Tatu ST foram armazenados em câmara fria (10 °C e  $\pm$  60% UR ar), enquanto os do cultivar Runner IAC 886 foram mantidos em condições de laboratório (20-30 °C e  $\pm$  45% de UR), visando reduzir o grau de dormência característico das sementes desse cultivar logo após a colheita.

Para avaliação preliminar do potencial fisiológico dos lotes, foram determinados em laboratório e em campo: teor de água das sementes (TA), germinação em rolo de papel (G) e em areia (GA), vigor pelo envelhecimento acelerado (EA) e pela condutividade elétrica (CE) e emergência de plântulas em campo (EC). Além destes testes, foi realizado o teste de tetrazólio (TZ), visando à adequação da metodologia e, posteriormente, à avaliação da viabilidade e do vigor das sementes.

Para os testes de germinação (substrato papel e areia), vigor (envelhecimento acelerado) e emergência de plântulas em campo, as sementes foram tratadas previamente à execução dos mesmos com carbendazin + thiram (2 mL.kg<sup>-1</sup> de sementes).

Previamente ao teste de tetrazólio, foi feita a caracterização das curvas de embebição, em copo e em papel, de sementes de amendoim para os cultivares IAC Tatu ST e Runner IAC 886, de modo a verificar o comportamento de absorção de água das mesmas.

### **3.1. Teor de Água**

Determinado com duas repetições de 25 sementes, em estufa a  $105 \pm 3$  °C, durante 24 horas (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em percentagem (base úmida).

### **3.2. Germinação (Substrato Papel)**

Oito repetições de 25 sementes tratadas de cada lote foram distribuídas em rolos de papel de germinação umedecidos com quantidade de água desionizada equivalente a três vezes sua massa seca, e mantidos em câmara de germinação a 25 °C. As avaliações foram realizadas no quinto e no 10º dia após a semeadura, sendo os resultados expressos em percentagem de plântulas normais, considerando o total de plântulas obtido nas duas avaliações (BRASIL, 2009).

### **3.3. Germinação (Substrato Areia)**

Oito repetições de 25 sementes tratadas de cada lote foram distribuídas a três centímetros de profundidade, em caixas de plástico (26 × 16 × 9 cm) contendo areia peneirada (malha de 1,7 mm), esterilizada em estufa a 200 °C durante 2 horas e umedecida com água destilada a 60% da capacidade de retenção. As caixas foram mantidas em laboratório (20-30 °C e  $\pm 45$  UR ar), e a avaliação realizada 14 dias após a instalação do teste, considerando-se o número de plântulas normais para o cálculo da percentagem de germinação (BRASIL, 2009).

### **3.4. Vigor – Envelhecimento Acelerado**

Amostras de aproximadamente 250 sementes tratadas de cada lote foram distribuídas em camada única e uniforme sobre telas de aço inox e colocadas em caixas de germinação tampadas (11 × 11 × 3,5 cm), com 40 mL de água desionizada ao

fundo. As caixas foram mantidas em câmara de germinação a 42 °C por 72 horas (USBERTI, 1982). Posteriormente, duas repetições de 25 sementes foram colocadas em estufa a  $105 \pm 3$  °C, durante 24 h, para determinação do teor de água, e oito repetições de 25 sementes foram submetidas ao teste de germinação (substrato papel), conforme item 3.2, sendo a avaliação realizada no quinto dia após a semeadura (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais.

### **3.5. Vigor – Condutividade Elétrica**

Para esse teste, sementes do cv. IAC Tatu ST, mantidas em câmara fria, foram retiradas com dois dias de antecedência para não sofrerem influência da temperatura. Quatro repetições de 50 sementes de cada lote de ambos os cultivares foram pesadas individualmente com precisão de 0,01 g e colocadas para embeber em copos de plástico contendo 75 mL de água desionizada a 25 °C, por 24 horas. Após a embebição foi medida a condutividade elétrica da solução, utilizando condutivímetro modelo MCA 150, e os resultados expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  (MARCOS FILHO & VIEIRA, 2009).

### **3.6. Emergência de Plântulas em Campo**

Quatro repetições de 50 sementes tratadas de cada lote foram semeadas manualmente a três centímetros de profundidade em linhas de 2,5 metros de comprimento e com espaçamento entrelinhas de 50 centímetros. A contagem das plântulas emergidas foi efetuada uma única vez, aos 21 dias após a semeadura (NAKAGAWA, 1999), e os resultados expressos em percentagem de plântulas normais.

### **3.7. Curva de Embebição em Água (Copo)**

Quatro repetições de 25 sementes para cada período foram colocadas para embeber em copos de plástico contendo 100 mL de água destilada a 25 °C. Após intervalos de tempo predeterminados (de meia em meia hora nas três primeiras horas,

de três em três horas até 18 horas e em intervalos de seis horas até 48 horas), as sementes foram retiradas da água, secadas superficialmente com papel de filtro e, em seguida, avaliou-se o teor de água de cada amostra (BRASIL, 2009).

### **3.8. Curva de Embebição em Água (Papel)**

Quatro repetições de 25 sementes para cada período foram colocadas para embeber em rolos de papel de germinação, umedecidos com quantidade de água equivalente a três vezes sua massa seca, e estes foram mantidos em câmara de germinação a 25 °C. Após intervalos de tempo predeterminados (de três em três horas até 18 horas e em intervalos de seis horas até 48 horas), as sementes foram retiradas do rolo de papel, secadas superficialmente com papel de filtro e, em seguida, avaliou-se o teor de água de cada amostra (BRASIL, 2009).

### **3.9. Teste de Tetrazólio**

Executado em duas etapas. Para a primeira etapa, foram utilizadas amostras de 100 sementes de cada lote e cultivar (quatro repetições de 25 sementes), enquanto para a segunda, 200 sementes (quatro repetições de 50 sementes).

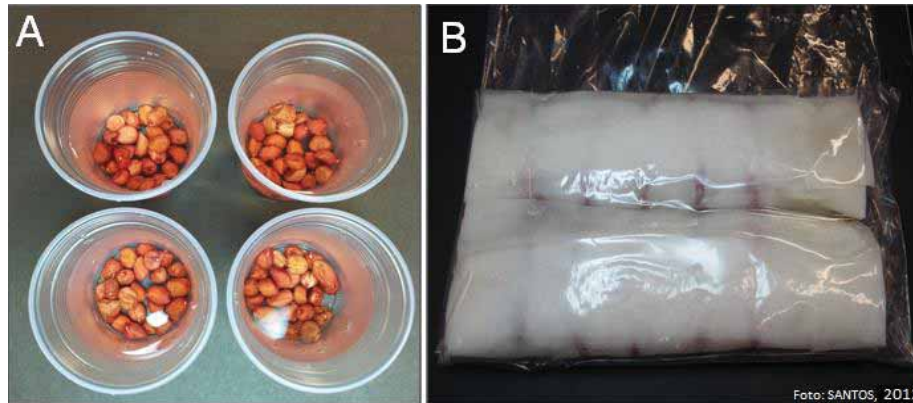
#### **3.9.1. Primeira Etapa**

Nessa etapa foi feita a adequação dos procedimentos utilizados para a cultura do amendoim, com relação ao pré-condicionamento, preparo e coloração das sementes.

**a) Pré-condicionamento:** as sementes foram pré-condicionadas em copos contendo 100 mL de água desionizada e em papel de germinação umedecido com quantidade de água desionizada equivalente a três vezes sua massa seca (Figura 2). Os copos foram mantidos em câmara de germinação a 25 °C por três, seis, nove, 12 e 16 horas, e os papéis por 16 e 24 horas. Em seguida, foi determinado o teor de água atingido pelas sementes e a viabilidade e o vigor (%) das sementes submetidas à

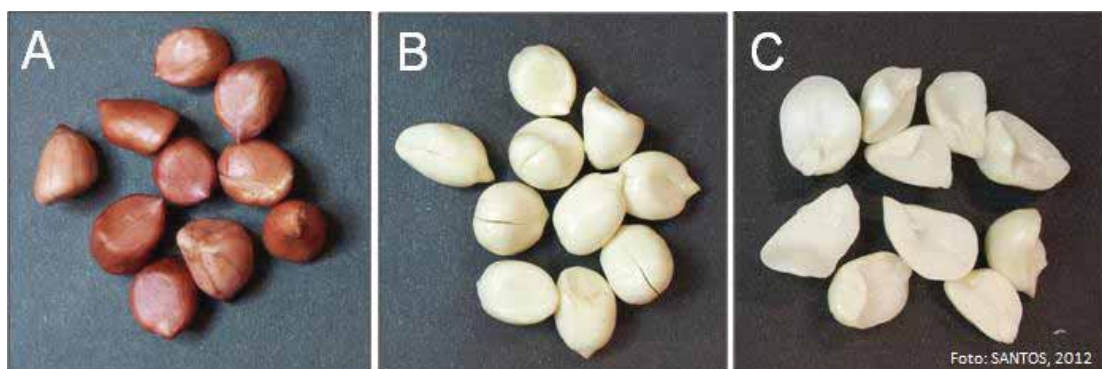


coloração sem tegumento e em solução de tetrazólio 0,2%, por 2 horas a 40 °C, condições utilizadas rotineiramente em laboratórios de análise de sementes.



**Figura 2.** Pré-condicionamento de sementes de amendoim realizado diretamente em água (A) e em papel umedecido (B), para realização do teste de tetrazólio.

**b) Preparo:** após a confirmação do melhor período de pré-condicionamento, tendo em vista a coloração e a diferenciação entre lotes obtidas anteriormente, as sementes foram colocadas para colorir com tegumento (BRASIL, 2009), sem tegumento (BITTENCOURT & VIEIRA, 1999) e sem tegumento e com cotilédones separados (CARVALHO et al., 2009) (Figura 3). No caso das sementes com cotilédones separados, estes foram seccionados longitudinalmente com lâmina, de modo a expor o eixo embrionário, e apenas um dos cotilédones foi colocado para colorir.



**Figura 3.** Preparo de sementes de amendoim utilizado para ambos os cultivares, no entanto, exemplificada para o cv. IAC Tatu ST: com tegumento (A), sem tegumento (B) e sem tegumento e com cotilédones separados (C).

**c) Coloração das sementes:** Após cada preparo, as sementes foram submetidas à solução de tetrazólio com concentrações 0,05; 0,075; 0,1 e 0,2%, a 40 °C, durante 2 horas. Decorrido esse período, as sementes foram lavadas e avaliadas sob lupa (aumento de seis vezes) com iluminação fluorescente. Para avaliação, as sementes que não tiveram os cotilédones separados durante o preparo foram cortadas longitudinalmente através da secção mediana do eixo embrionário. As sementes foram distribuídas em três classes (Figura 4) (BITTENCOURT & VIEIRA, 1999), considerando a intensidade e uniformidade de coloração e o tipo, extensão e posição de lesão.



**Figura 4.** Classificação de sementes de amendoim utilizada para ambos os cultivares, no entanto, exemplificada para o cv. Runner IAC 886: (A) Classe I: sementes viáveis e vigorosas, (B) Classe II: sementes viáveis e não vigorosas, e (C) Classe III: sementes inviáveis.

### 3.9.2. Segunda Etapa

Nessa etapa, foram repetidas as técnicas que apresentaram melhores resultados com relação à viabilidade (classe I e II) e ao vigor (classe I) na primeira etapa do teste, visando a avaliação do potencial fisiológico das sementes.

### 3.10. Procedimento Estatístico

Os dados obtidos foram analisados utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições para o teste de germinação (substrato papel e areia) e

envelhecimento acelerado, e quatro repetições para os demais testes. Também foi realizada a correlação simples entre os resultados do teste de tetrazólio e os demais testes de laboratório e emergência de plântulas em campo. A comparação das médias foi realizada por intermédio do Teste de Tukey, a 5% de probabilidade (BANZATTO & KRONKA, 2006).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na caracterização inicial do potencial fisiológico dos lotes de sementes de amendoim, cultivar IAC Tatu ST e Runner IAC 886, todos os lotes apresentaram teor de água inicial e após envelhecimento acelerado semelhantes e dentro do limite de variação recomendado de até quatro pontos percentuais (MARCOS FILHO, 2005), garantindo que os testes de vigor foram isentos de possíveis variações de resultados relacionadas ao teor de água (Tabela 1).

**Tabela 1.** Teor de água inicial (TA) e após envelhecimento acelerado (TAEA), germinação em papel (G) e em areia (GA), envelhecimento acelerado (EA), emergência de plântulas em campo (EC) e condutividade elétrica (CE) de oito lotes de sementes de amendoim, quatro do cv. IAC Tatu ST e quatro do cv. Runner IAC 886.

Cultivar	Lotes	TA	TAEA	G	GA	EA	EC	CE
		----- % -----						$\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$
IAC Tatu ST	1	6,3	23,8	85 b	60 b	68 b	80 a	38,4 b
	2	6,6	20,4	80 b	68 b	74 b	79 a	40,6 b
	3	7,5	21,6	78 b	42 c	50 c	58 b	49,5 c
	4	6,5	22,0	98 a	92 a	98 a	91 a	6,1 a
<b>CV %</b>		-	-	10,7	15,4	10,8	8,3	10,1
Runner IAC 886	1	6,1	15,5	60 b	38 ab	50 ab	56 a	13,8 a
	2	6,3	17,3	74 a	50 a	56 a	41 ab	20,8 b
	3	6,2	18,5	70 ab	40 ab	48 ab	50 a	16,2 ab
	4	6,1	18,3	44 c	32 b	36 b	27 b	32,8 c
<b>CV %</b>		-	-	15,3	24,0	26,3	24,1	15,8

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

Os lotes do cultivar IAC Tatu ST apresentaram germinação acima do mínimo exigido para a comercialização de amendoim no estado de São Paulo, que é de 70%, diferentemente do observado para os lotes do cultivar Runner IAC 886, os quais possuíam sementes com dormência, problema comum nesse cultivar (Tabela 1). O uso de lotes com alta germinação é recomendado para que sejam comparados genótipos compatíveis com as exigências estabelecidas no mercado (KIKUTI et al., 2008).

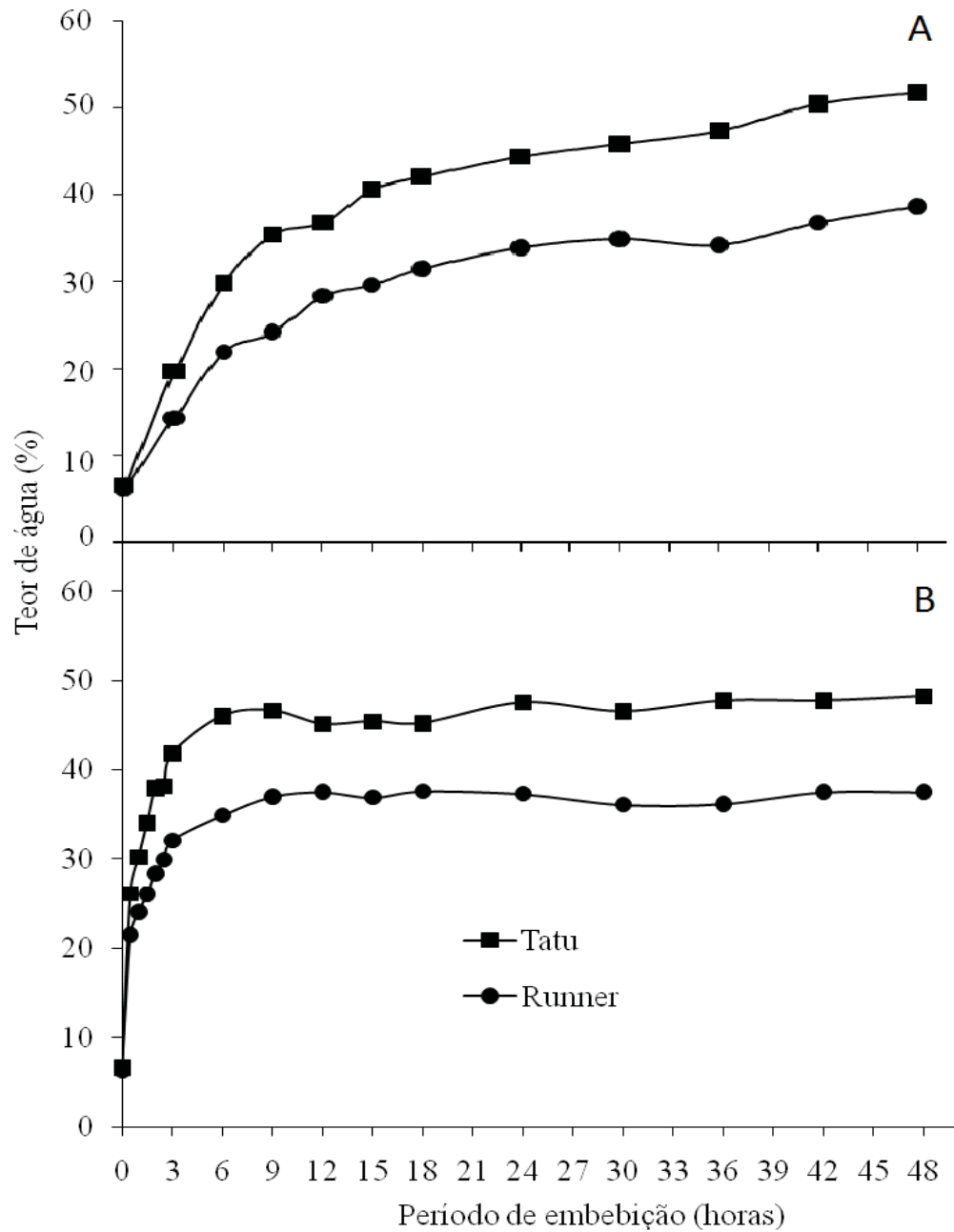
Foram verificadas diferenças de potencial entre os lotes de ambos os cultivares em todos os testes realizados, sendo que o lote 4 do cultivar IAC Tatu ST mostrou-se superior aos demais, exceto no teste de emergência de plântulas em campo, no qual apenas o lote 3 teve desempenho mais baixo. Esse mesmo lote apresentou potencial fisiológico inferior nos testes de vigor (Tabela 1).

Para o cultivar Runner IAC 886, o lote 4 foi classificado como o de menor potencial fisiológico nos testes de germinação (substrato papel) e de condutividade elétrica e, mesmo não diferindo estatisticamente dos demais nos outros testes, manteve essa tendência à inferioridade (Tabela 1).

Anteriormente ao estudo do teste de tetrazólio, foram caracterizadas as curvas de embebição dos cultivares em papel umedecido e diretamente em água (Figura 5), de modo a conhecer o padrão de hidratação das sementes. Independentemente do tipo de condicionamento, o cultivar IAC Tatu ST apresentou padrão de embebição superior ao Runner IAC 886. Esse fato pode ser um dos aspectos decisivos na obtenção de coloração uniforme e a razão pela qual determinados procedimentos não terem o mesmo comportamento em diferentes cultivares.

A velocidade e o período de absorção de água pelas sementes variam de acordo com a espécie e são influenciados pelas condições do ambiente durante a embebição, permeabilidade do tegumento, tecido que compõe a semente, entre outros (BITTENCOURT, 1995; CAVARIANI et al., 2009). No entanto, o percentual de água absorvida não se altera, pois está relacionada à composição química, ou seja, à propriedade dos colóides hidrofílicos presentes na semente (CAVARIANI et al., 2009).

Observa-se que, para os dois cultivares, a embebição foi mais intensa no intervalo entre zero e nove horas de condicionamento em papel, porém não houve estabilização da curva após esse período, uma vez que o teor de água continuou elevando-se até 48 horas (Figura 5). No caso do condicionamento diretamente em água (copo), os dois cultivares atingiram a máxima absorção de água com nove horas, mantendo o mesmo padrão até o último período avaliado (Figura 5). Apesar de não ter sido observada estabilização da curva de embebição em papel, os valores obtidos ao final do período foram semelhantes para as duas curvas.



**Figura 5.** Curvas de embebição em papel umedecido (A) e diretamente em água – copo (B) de sementes de amendoim, cv. IAC Tatu ST e Runner IAC 886.

Nas curvas obtidas nesta pesquisa, foi possível notar claramente as duas primeiras fases do padrão trifásico de absorção de água pelas sementes (BEWLEY & BLACK, 1994). A fase I, considerada a mais rápida, prolongou-se por seis horas (copo)

e nove horas (papel), diferentemente do observado por CARVALHO & SPINA (1981), também com sementes de amendoim, em que estas alcançaram a fase II entre uma e duas horas. A fase II foi verificada em ambos os condicionamentos, porém, com mais intensidade nas sementes condicionadas diretamente em água (Figura 5).

Em estudo sobre o comportamento de sementes de soja durante o início do processo germinativo, verificou-se que a absorção de água ocorreu de forma mais rápida nas primeiras 12 horas, atingindo teores de água entre 40 e 45%, seguida de embebição lenta, em uma fase intermediária (ROSSETTO et al., 1997). Também em sementes de soja, CAVARIANI et al. (2009) relataram que a velocidade de hidratação em atmosfera controlada foi linear até oito horas, período máximo avaliado por esses autores, não alcançando a fase II.

A importância da determinação da curva de absorção de água relaciona-se a estudos de impermeabilidade de tegumento, determinação da duração de tratamentos com reguladores vegetais, condicionamento osmótico e pré-hidratação (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

Após o estabelecimento das curvas de hidratação, iniciaram-se os experimentos envolvendo a adequação do teste de tetrazólio. Para que os resultados desse teste sejam satisfatórios, a solução de tetrazólio deve ser absorvida adequadamente pelas sementes. Assim, algumas espécies necessitam de etapas preparatórias para serem imersas nessa solução (COSTA & SANTOS, 2010). A embebição das sementes em água antes de serem submetidas à solução é conhecida como pré-condicionamento.

As sementes pré-condicionadas do cultivar IAC Tatu ST alcançaram, de modo geral, teores de água iguais ou acima de 40%, em todos os períodos e condições determinados, com exceção do lote 4, que se manteve abaixo dos demais desde os períodos iniciais de pré-condicionamento (Tabela 2). Esse lote foi considerado o mais vigoroso na avaliação inicial do potencial fisiológico (Tabela 1) e, por esse motivo, pode ter apresentado teores de água mais baixos, uma vez que sementes menos vigorosas apresentam maior velocidade de embebição devido à alta permeabilidade do tegumento e à desorganização dos sistemas de membranas (VIEIRA et al., 1981 e 1982; SANTOS et al., 2011).

A absorção de água pelas sementes do cultivar Runner IAC 886 foi menor, em torno de 30%, e não apresentou diferença relacionada ao potencial fisiológico (Tabela 2). Ambos os cultivares possuíram padrão de absorção semelhante ao comportamento observado nas curvas de embebição, embora com valores diferentes (Figura 5).

**Tabela 2.** Teor de água das sementes (%) de quatro lotes de amendoim, cv. IAC Tatu ST e Runner IAC 886, submetidos ao pré-condicionamento diretamente em água (copo) e em papel umedecido por períodos determinados.

Cultivar	Lote	Copo					Papel	
		3 h	6 h	9 h	12 h	16 h	16 h	24 h
IAC Tatu ST	1	41,5	42,7	42,8	44,6	45,8	40,7	40,8
	2	39,5	42,2	42,5	42,5	42,3	38,5	40,1
	3	40,1	49,6	44,5	45,4	44,6	41,2	45,7
	4	27,5	35,2	37,8	38,4	38,8	32,5	35,7
Runner IAC 886	1	29,1	33,6	32,8	38,9	40,1	30,5	32,8
	2	32,2	39,5	42,6	40,0	35,6	41,2	36,4
	3	28,1	37,3	38,0	39,2	38,7	33,3	35,3
	4	33,6	37,2	39,3	38,2	37,4	34,8	26,4

Em estudo sobre pré-condicionamento de sementes de mamona, o potencial fisiológico não interferiu na absorção de água e o teor de água permaneceu entre 28 e 32% (GASPAR-OLIVEIRA et al., 2011). Já em trabalho anterior com sementes de amendoim, o potencial fisiológico influenciou apenas os períodos de pré-condicionamento intermediários, sendo que os lotes de alto e baixo vigor absorveram mais água em relação aos de vigor intermediário (BITTENCOURT & VIEIRA, 1997).

O teor de água considerado ideal após o pré-condicionamento para sementes de soja é superior a 27%, ou seja, a coloração obtida após imersão em solução de tetrazólio será mais nítida e uniforme, evitando o aparecimento de manchas mosaico, comuns nessa espécie (COSTA et al., 2008). Para amendoim, cultivar Tatu 53, verificou-se que teores abaixo de 30% dificultaram a avaliação das sementes após coloração, devido à falta de uniformidade (BITTENCOURT et al., 1997).

Sementes com coloração uniforme e adequada são essenciais para interpretação segura e eficiente no teste de tetrazólio, e o pré-condicionamento é etapa crítica na obtenção dessas características (BITTENCOURT et al., 1997; BHERING et al., 2005).



Em muitas espécies, o pré-condicionamento faz-se necessário visando à reidratação dos tecidos, à penetração da solução e à ativação das enzimas desidrogenases, responsáveis pela liberação de íons hidrogênio que reagem com a solução de tetrazólio, formando o formazan que permite o desenvolvimento da coloração vermelho-rósea característica do teste (DELOUCHE et al., 1976; BITTENCOURT, 1995; VIEIRA & VON PINHO, 1999; NERY et al., 2007).

Na avaliação das sementes após o pré-condicionamento, a maioria dos períodos testados permitiu a separação dos lotes em diferentes níveis com relação à viabilidade e ao vigor, para os dois cultivares (Tabelas 3 e 4). De modo geral, o período de três horas (copo) foi ineficiente para os dois tipos de avaliação realizados, enquanto o de 24 horas (papel), não distinguiu os lotes do cultivar Runner IAC 886, na avaliação do vigor.

**Tabela 3.** Viabilidade e vigor de quatro lotes de sementes de amendoim, cv. IAC Tatu ST, após diferentes períodos de pré-condicionamento e coloração (sementes sem tegumento) em solução de tetrazólio 0,2%, 40 °C, por duas horas.

Avaliação	Lote	Copo					Papel	
		3 h	6 h	9 h	12 h	16 h	16 h	24 h
Viabilidade (%)	1	77 ab	67 b	78 b	84 ab	80 ab	90 ab	87 ab
	2	69 ab	68 b	68 bc	79 b	73 b	87 ab	96 a
	3	53 b	66 b	59 c	72 b	75 b	81 b	71 b
	4	87 a	98 a	98 a	96 a	97 a	97 a	93 a
CV %		17,6	9,1	11,9	8,2	11,4	6,5	9,4
Vigor (%)	1	43 a	32 b	48 b	52 b	61 b	58 b	71 a
	2	35 a	33 b	35 bc	50 b	54 b	67 b	68 a
	3	23 a	32 b	27 c	41 b	41 b	54 b	38 b
	4	45 a	81 a	80 a	85 a	88 a	96 a	74 a
CV %		29,8	19,7	15,7	12,9	15,9	12,2	19,7

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

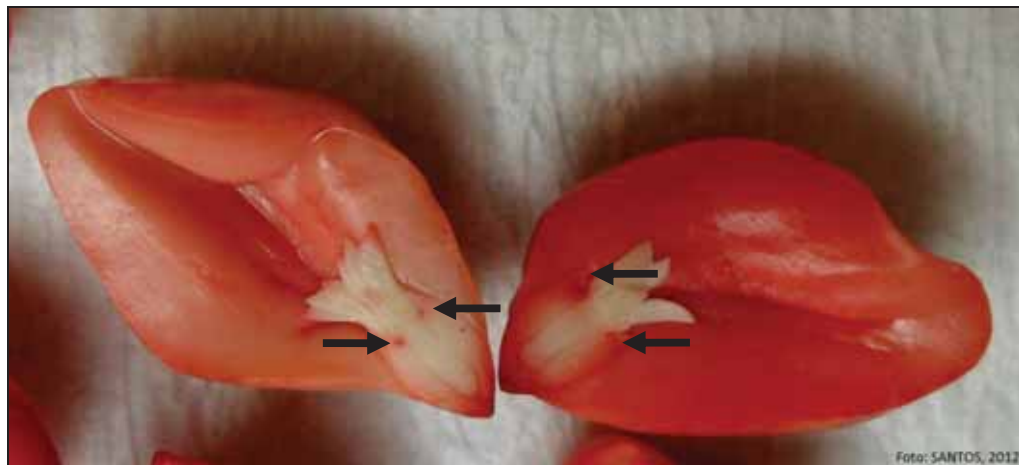
Considerando os menores períodos de pré-condicionamento, em diversas sementes, inclusive de lotes diferentes, observaram-se pontuações de coloração no córtex do eixo embrionário, em ambos os lados da plúmula (Figura 6). Essas manchas foram desconsideradas na análise das sementes, uma vez que poderiam induzir a interpretações errôneas, pois nos demais períodos não foram notadas. Esse problema pode ter ocorrido por ocasião de condição inadequada de pré-condicionamento. A

embebição rápida, ou ainda, insuficiente, prejudica a avaliação do potencial fisiológico por meio desse teste (BITTENCOURT et al., 1997).

**Tabela 4.** Viabilidade e vigor de quatro lotes de sementes de amendoim, cv. Runner IAC 886, após diferentes períodos de pré-condicionamento e coloração (sementes sem tegumento) em solução de tetrazólio 0,2%, 40 °C, por duas horas.

Avaliação	Lote	Copo					Papel	
		3 h	6 h	9 h	12 h	16 h	16 h	24 h
Viabilidade (%)	1	38 a	55 a	51 a	59 a	45 ab	72 a	58 ab
	2	35 a	44 ab	45 ab	48 ab	56 a	62 a	63 a
	3	36 a	41 ab	37 b	35 bc	39 b	61 a	71 a
	4	29 a	28 b	20 c	20 c	20 c	32 b	46 b
CV %		17,9	21,2	15,5	22,4	19,9	12,8	12,2
Vigor (%)	1	15 a	39 a	31 a	40 a	34 a	51 a	34 a
	2	13 a	14 bc	22 a	18 b	19 b	33 b	31 a
	3	19 a	26 ab	19 a	9 b	22 b	24 b	28 a
	4	7 a	4 c	3 b	4 b	5 c	19 b	25 a
CV %		57,4	38,8	30,9	40,0	28,0	24,2	23,0

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



**Figura 6.** Pontuações de coloração observadas durante avaliação de sementes pré-condicionadas por seis horas (Foto: sementes do cultivar IAC Tatu ST, coloração: tetrazólio 0,2%, 40 °C, 2 h).

Para viabilidade do cultivar IAC Tatu ST, os períodos de nove, 12 e 16 horas (copo) foram os que possibilitaram separação dos lotes em mais níveis e de forma

semelhante ao observado na avaliação inicial dos lotes, para vigor, o de nove horas (copo) (Tabela 3). Para o cultivar Runner IAC 886, nove e 16 horas (copo) de pré-condicionamento permitiram melhor classificação para viabilidade e apenas o de 16 horas (copo) para vigor (Tabela 4).

Assim, sob o ponto de vista prático e levando em conta a rotina de um laboratório de sementes, a melhor opção para o pré-condicionamento é o período de 16 horas (copo) a 25 °C.

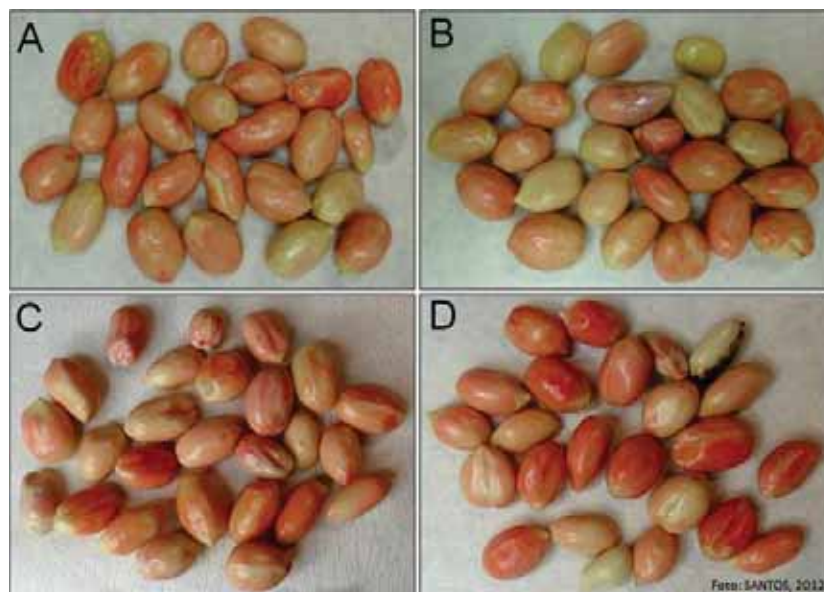
Determinado o método e o período de pré-condicionamento, estudou-se o preparo e a coloração das sementes de amendoim. As sementes imersas em solução de tetrazólio com tegumento apresentaram coloração desuniforme e com manchas, independentemente da concentração da solução (Figura 7 e 8). Apesar disso, a avaliação das sementes foi possível, pois sementes deterioradas absorvem solução mais rapidamente que sementes viáveis, mesmo que a coloração seja mais clara do que o observado normalmente (FRANÇA NETO, 1999; COSTA & SANTOS, 2010).

Tecidos de sementes vigorosas apresentam forte resistência à entrada rápida da solução de tetrazólio, relacionada ao sistema de membranas, o que propicia coloração suave ou até mesmo ausente. Nesses casos, contudo, verifica-se que os tecidos estão firmes, túrgidos e brilhantes, conseguindo-se estabelecer diferenças entre tecidos vigorosos, deteriorados e mortos (VIEIRA & VON PINHO, 1999).

O tegumento de sementes de amendoim, embora de espessura fina, oferece grande barreira à penetração da solução de tetrazólio durante o teste, e a remoção do mesmo possibilita a utilização de solução de menor concentração (BITTENCOURT & VIEIRA, 1999). Em sementes de melancia e de mamona, é necessária a remoção do tegumento para que haja absorção da solução de tetrazólio (BHERING et al., 2005; GASPAR-OLIVEIRA et al., 2009), sendo que o mesmo preparo para coloração é dispensado para sementes de soja (FRANÇA NETO, 1999) e de feijão (BHERING et al., 1999).



**Figura 7.** Coloração de sementes de amendoim com tegumento, cultivar IAC Tatu ST, submetidas à solução de tetrazólio, por duas horas a 40 °C, nas concentrações 0,2% (A), 0,1% (B), 0,075% (C) e 0,05% (D), após pré-condicionamento por 16 horas a 25 °C, diretamente em água.



**Figura 8.** Coloração de sementes de amendoim com tegumento, cultivar Runner IAC 886, submetidas à solução de tetrazólio, por duas horas a 40 °C, nas concentrações 0,2% (A), 0,1% (B), 0,075% (C) e 0,05% (D), após pré-condicionamento por 16 horas a 25 °C, diretamente em água.

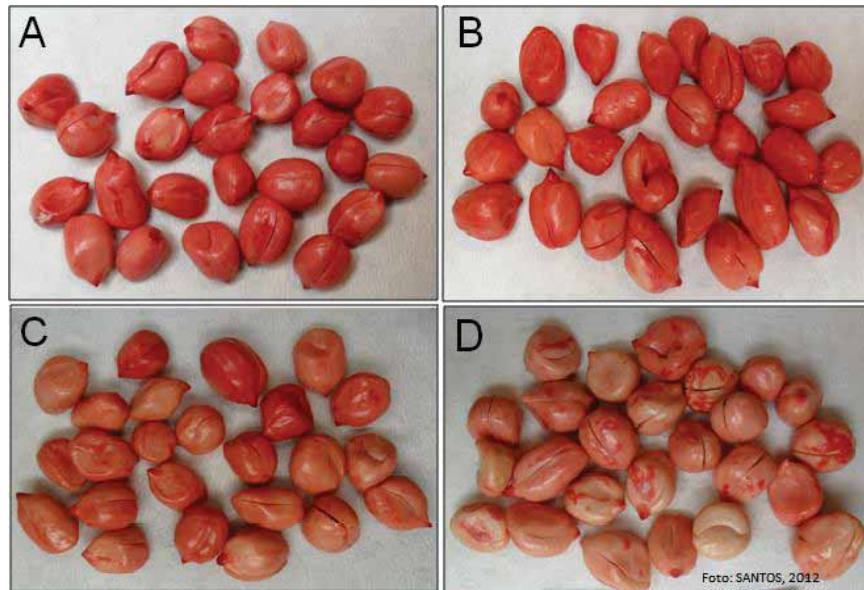
A remoção do tegumento possibilitou maior uniformidade no desenvolvimento da coloração (Figura 9 e 10). Contudo, essa operação é delicada e trabalhosa, podendo causar injúrias ao embrião (BITTENCOURT et al., 1997; VIEIRA & VON PINHO, 1999). Nota-se que a solução de tetrazólio promoveu coloração bastante escura e proporcional à concentração usada, inclusive na radícula, região das sementes de amendoim que fica muito exposta, dificultando a interpretação do teste.

A absorção uniforme da solução de tetrazólio por toda a semente foi favorecida por esse preparo, mesmo com o uso de concentrações mais baixas. Menores concentrações de sal de tetrazólio são recomendadas por possibilitarem melhor visualização da coloração dos tecidos e dos diferentes tipos de injúrias (MARCOS FILHO et al., 1987; FRANÇA NETO et al., 1998).

A separação dos cotilédones por meio da secção longitudinal através do eixo embrionário (Figura 11 e 12) favoreceu o contato da parte interna da semente com a solução de tetrazólio, o que não ocorreu nos preparos anteriores. Apenas a retirada do tegumento de sementes de amendoim não permite o contato entre a solução de tetrazólio e as faces internas e o eixo embrionário, inviabilizando a obtenção de imagens definidas dessas estruturas (CARVALHO et al., 2009).

Entretanto, esse procedimento pode ter ocasionado danos ao eixo embrionário devido à passagem da lâmina entre os cotilédones durante o preparo. Esses danos dificultaram a identificação de injúrias pré-existentes, e a avaliação correta das sementes, podendo ter prejudicado os resultados, assim como verificado no preparo de sementes de mamona (GASPAR-OLIVEIRA et al., 2009).

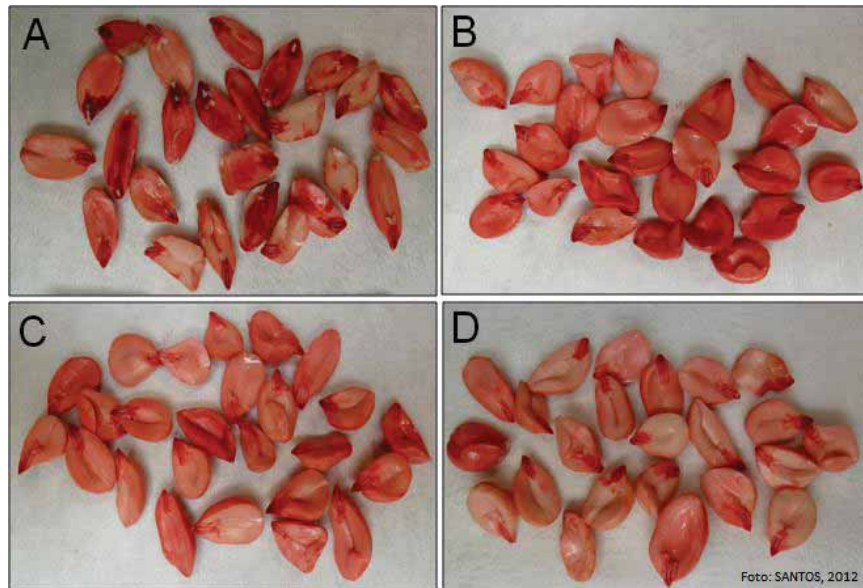
Outro problema com relação a esse preparo é o descarte de um dos cotilédones antes da imersão na solução de tetrazólio, não sendo possível avaliar ambas as metades. CARVALHO et al. (2009), em sementes de amendoim, prepararam as sementes com cotilédones separados, submetendo ambos à coloração em células individuais, para que não houvesse mistura de cotilédones, no entanto, essa metodologia torna o teste trabalhoso, deixando a desejar quanto aos objetivos de um teste de vigor.



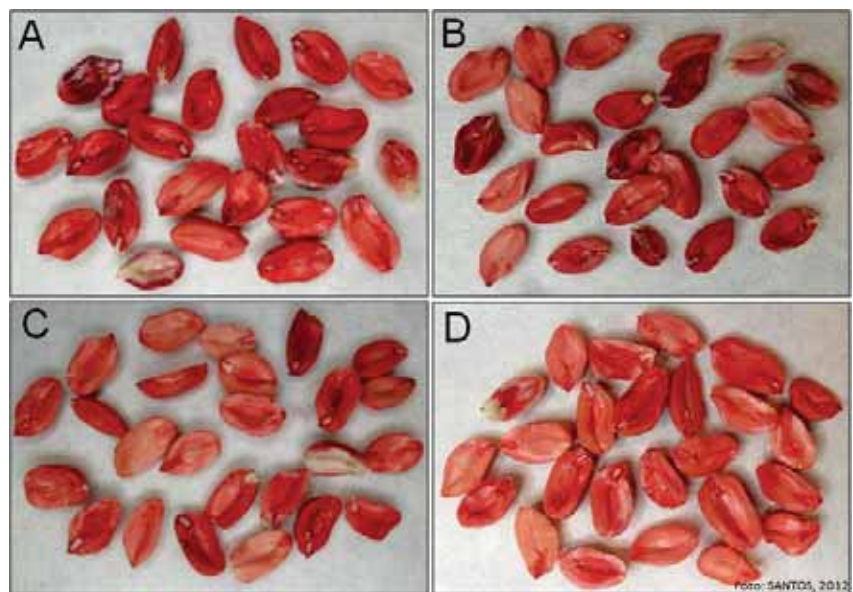
**Figura 9.** Coloração de sementes de amendoim sem tegumento, cultivar IAC Tatu ST, submetidas à solução de tetrazólio, por duas horas a 40 °C, nas concentrações 0,2% (A), 0,1% (B), 0,075% (C) e 0,05% (D), após pré-condicionamento por 16 horas a 25 °C, diretamente em água.



**Figura 10.** Coloração de sementes de amendoim sem tegumento, cultivar Runner IAC 886, submetidas à solução de tetrazólio, por duas horas a 40 °C, nas concentrações 0,2% (A), 0,1% (B), 0,075% (C) e 0,05% (D), após pré-condicionamento por 16 horas a 25 °C, diretamente em água.



**Figura 11.** Coloração de sementes de amendoim com cotilédones separados, cultivar IAC Tatu ST, submetidas à solução de tetrazólio, por duas horas a 40 °C, nas concentrações 0,2% (A), 0,1% (B), 0,075% (C) e 0,05% (D), após pré-condicionamento por 16 horas a 25 °C, diretamente em água.

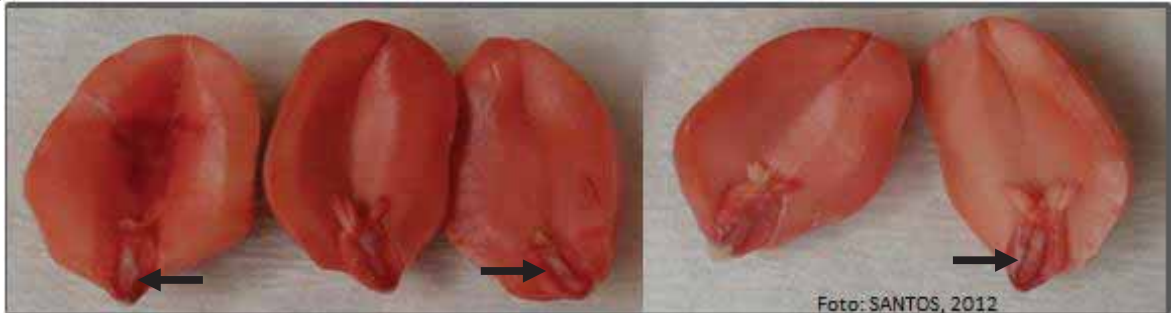


**Figura 12.** Coloração de sementes de amendoim com cotilédones separados, cultivar Runner IAC 886, submetidas à solução de tetrazólio, por duas horas a 40 °C, nas concentrações 0,2% (A), 0,1% (B), 0,075% (C) e 0,05% (D), após pré-condicionamento por 16 horas a 25 °C, diretamente em água.

A coloração obtida internamente foi muito intensa e diferente da observada nos demais preparos. Com base nas observações de intensidade de coloração, profundidade e localização dos danos foram estabelecidos novos critérios para avaliação de sementes com cotilédones separados (Figura 13)



**Classe I:** Eixo embrionário uniformemente colorido (coloração róseo-clara). Sementes com pequenas pontuações descoloridas na plúmula e na radícula, sem que estas atinjam o cilindro central.



**Classe II:** Eixo embrionário colorido (coloração róseo-clara, podendo haver pontuações róseo-escuras). Plúmula descolorida e danos no hipocótilo (córtex) são aceitáveis. Descolorações superficiais no cilindro central podem estar presentes, devido ao corte precedente à solução de TZ.



**Classe III:** Eixo embrionário colorido intensamente (coloração róseo-escura) ou sem coloração (branco leitoso), indicando tecido em deterioração ou morto, respectivamente. Danos mais profundos no cilindro central.

**Figura 13.** Classes para a determinação da viabilidade e vigor de sementes de amendoim (preparo: sementes sem tegumento e com cotilédones separados).



A escolha das melhores concentrações para avaliação da viabilidade e do vigor foi feita a partir dos resultados obtidos pelo teste de tetrazólio utilizando os três preparos (Tabelas 5 e 6). Em ambos os cultivares, havendo mais de uma opção, preferiram-se as menores concentrações e aquelas que refletiram melhor os resultados dos demais testes realizados em laboratório (Tabela 1). A escolha da concentração também deve ser baseada na facilidade de diferenciação das sementes viáveis e inviáveis (PINHO et al., 2011).

Com relação ao cultivar IAC Tatu ST, no preparo das sementes com tegumento, sem tegumento e com cotilédones separados, a concentração que permitiu maior separação entre os lotes foi a solução de tetrazólio a 0,05%, tanto para viabilidade, quanto para vigor (Tabela 5). Essa concentração também foi recomendada por BITTENCOURT & VIEIRA (1997 e 1999), no caso de sementes de amendoim sem tegumento, entretanto, por período de coloração maior, três horas.

**Tabela 5.** Viabilidade e vigor de quatro lotes de sementes de amendoim, cv. IAC Tatu ST, após diferentes métodos de preparo e coloração por duas horas a 40 °C (pré-condicionamento: 16 horas diretamente em água, a 25 °C).

Prep.*	Lote	Viabilidade (%)				Vigor (%)			
		0,2%	0,1%	0,075%	0,05%	0,2%	0,1%	0,075%	0,05%
CT	1	84 b	81 ab	81 ab	84 b	40 bc	47 b	50 b	55 b
	2	82 b	72 b	79 b	91 ab	51 b	47 b	48 b	62 b
	3	65 c	65 b	60 c	74 c	30 c	31 b	37 b	38 c
	4	99 a	98 a	99 a	98 a	86 a	83 a	98 a	92 a
CV %		6,9	10,6	10,8	4,8	12,4	15,8	15,7	8,1
ST	1	80 ab	78 b	77 ab	86 ab	61 b	35 c	34 b	56 b
	2	73 b	80 ab	74 ab	81 ab	54 b	50 b	44 b	55 b
	3	75 b	57 c	55 b	67 b	41 b	36 bc	26 b	35 c
	4	97 a	98 a	97 a	98 a	88 a	88 a	83 a	80 a
CV %		11,4	12,0	15,6	12,7	15,9	13,2	19,6	16,3
CS	1	-	78 ab	84 b	83 b	-	57 ab	53 b	50 bc
	2	-	86 ab	81 bc	81 b	-	50 bc	47 b	59 b
	3	-	76 b	70 c	71 c	-	37 c	36 b	40 c
	4	-	95 a	98 a	97 a	-	74 a	84 a	75 a
CV %		-	10,4	7,7	5,4	-	16,3	17,5	11,0

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância. \* Modo de preparo das sementes: CT: Com tegumento, ST: Sem tegumento, CS: Cotilédones separados

**Tabela 6.** Viabilidade e vigor de quatro lotes de sementes de amendoim, cv. Runner IAC 886, após diferentes métodos de preparo e coloração por duas horas a 40 °C (pré-condicionamento: 16 horas diretamente em água, a 25 °C).

Prep.*	Lote	Viabilidade (%)				Vigor (%)			
		0,2%	0,1%	0,075%	0,05%	0,2%	0,1%	0,075%	0,05%
CT	1	74 a	79 a	68 a	74 a	48 a	48 a	42 a	44 a
	2	64 ab	74 a	54 ab	71 a	32 ab	33 ab	23 ab	43 a
	3	57 b	79 a	63 a	74 a	24 b	41 a	35 ab	41 a
	4	43 c	54 b	42 b	52 a	14 b	19 b	18 b	25 a
CV %		9,2	12,7	16,4	16,8	30,1	25,0	30,7	30,5
ST	1	45 ab	60 a	44 a	53 a	34 a	26 a	21 a	24 a
	2	56 a	54 a	53 a	44 a	19 b	20 a	29 a	18 a
	3	39 b	54 a	46 a	52 a	22 b	28 a	27 a	26 a
	4	20 c	27 b	26 b	35 a	5 c	5 b	5 b	15 a
CV %		19,9	17,8	10,5	22,9	28,0	23,2	29,3	34,6
CS	1	-	39 a	58 a	45 a	-	16 a	27 a	20 a
	2	-	37 ab	57 a	46 a	-	15 a	16 ab	23 a
	3	-	33 ab	46 ab	41 a	-	11 a	9 bc	23 a
	4	-	16 b	29 b	23 a	-	6 a	3 c	5 a
CV %		-	32,3	18,1	31,7	-	77,3	44,6	61,1

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância. \* Modo de preparo das sementes: CT: Com tegumento, ST: Sem tegumento, CS: Cotilédones separados

As sementes com tegumento e com cotilédones separados do cultivar Runner IAC 886 tiveram melhores resultados com a concentração 0,075%, confirmando pesquisa anterior com sementes de amendoim (BITTENCOURT & VIEIRA, 1997). Para as sementes sem tegumento, a solução de 0,2% foi mais adequada para separar os lotes de modo semelhante ao observado nos outros testes (Tabela 6).

A ausência do tegumento, nesse cultivar, não possibilitou a redução da concentração e nem favoreceu a avaliação das sementes, uma vez que a rápida entrada da solução ocasionou na região do eixo embrionário, especialmente a radícula, coloração intensa que dificultou a visualização de danos. Esse comportamento justifica a readequação desse teste para sementes de amendoim. Com isso, comprova-se a função do tegumento na regulação da entrada de água nas sementes durante o processo de embebição, para que esta ocorra de forma lenta (WOODSTOCK, 1988; GASPAR-OLIVEIRA et al., 2011).

Devido à coloração muito intensa, não foi possível avaliar o teste de tetrazólio realizado com sementes com cotilédones separados submetidas à coloração em solução a 0,2%, em ambos os cultivares (Tabelas 5 e 6).

Posteriormente à decisão das concentrações mais adequadas de solução de tetrazólio, realizou-se a segunda etapa do teste de tetrazólio, visando a confirmação dos resultados por meio da aplicação do mesmo utilizando número maior de sementes por repetição, totalizando 200 sementes, número oficial para realização do testes (BRASIL, 2009). Os resultados de viabilidade e vigor para os três métodos encontram-se na Tabela 7 e a Figura 14 corresponde às fotos das sementes após o teste de tetrazólio nas diferentes combinações de preparo e coloração escolhidas.

**Tabela 7.** Avaliação do potencial fisiológico de sementes de amendoim, IAC Tatu ST e Runner IAC 886, pelo teste de tetrazólio (pré-condicionamento: 16 horas diretamente em água, a 25 °C, e coloração por duas horas a 40 °C).

Cultivar	Lotes	CT* (0,05%)		ST (0,05%)		CS (0,05%)	
		Viabilidade	Vigor	Viabilidade	Vigor	Viabilidade	Vigor
----- % -----							
IAC Tatu ST	1	90 a	60 b	76 b	40 b	82 b	54 b
	2	82 a	46 c	74 b	44 b	78 b	42 c
	3	63 b	30 d	49 c	23 c	56 c	34 c
	4	95 a	86 a	97 a	90 a	96 a	91 a
CV %		8,1	9,6	10,2	7,0	4,9	9,8
		CT* (0,075%)		ST (0,2%)		CS (0,075%)	
Runner IAC 886	1	80 a	46 a	51 ab	27 a	40 ab	24 a
	2	78 a	44 ab	57 a	30 a	54 a	24 a
	3	72 ab	40 ab	44 b	23 a	35 ab	20 ab
	4	62 b	30 b	21 c	8 b	25 b	10 b
CV %		9,3	18,4	11,9	23,7	23,5	35,7

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância. \* Modo de preparo das sementes: CT: Com tegumento, ST: Sem tegumento, CS: Cotilédones separados. As concentrações utilizadas para cada preparo encontram-se entre parênteses.

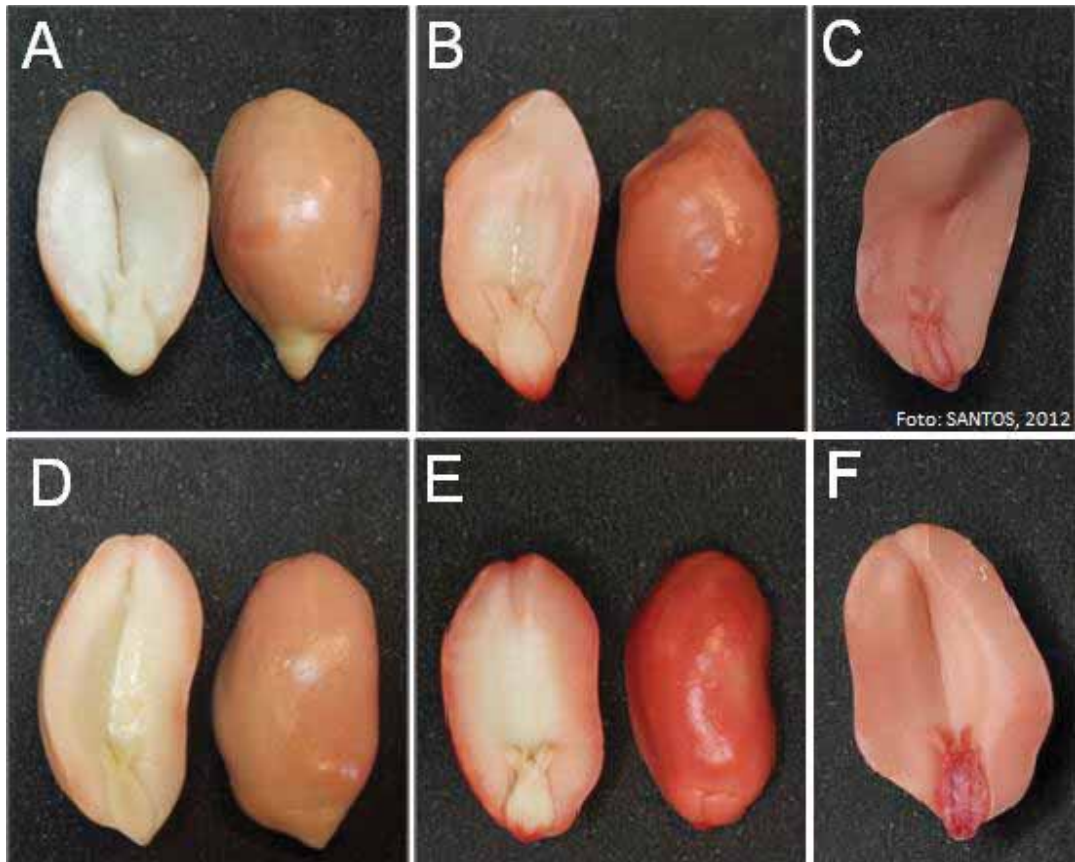
Analisando os resultados do preparo com tegumento, cultivar IAC Tatu ST, a viabilidade discriminou os lotes de forma diferente ao observado na germinação (substrato papel e areia), mas similar ao verificado para emergência de plântulas em campo. Já a avaliação do vigor separou todos os lotes em diferentes níveis (Tabelas 1 e 7).

A avaliação da viabilidade e do vigor pelo tetrazólio após o preparo sem tegumento e o de viabilidade, com cotilédones separados, apresentaram mesma classificação de lotes e análoga a dos testes de germinação (substrato areia), de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica. A associação entre o vigor obtido pelo teste de tetrazólio e pelos testes de vigor é importante para certificar a consistência do teste e considerá-lo seguro e apropriado para avaliar o desempenho das sementes (Tabela 7).

Para o cultivar Runner IAC 886, a separação dos lotes considerando todas as formas de preparo foi bem variada, mas, de maneira geral, manteve a classificação do lote 4 como inferior (Tabela 7), semelhante ao observado na avaliação inicial dos lotes (Tabela 1). Essa dificuldade de identificação de lotes com nível intermediário de vigor é constatada de forma recorrente na literatura, pois, dependendo do teste utilizado, os lotes podem expressar comportamento próximo aos de alto ou de baixo vigor (BITTENCOURT, 1995; MIGUEL & MARCOS FILHO, 2002; MARCOS FILHO, 2005).

Os resultados do teste de tetrazólio com relação à viabilidade devem ser comparáveis e próximos aos do teste de germinação, com margem de 5% de diferença entre eles (FERREIRA et al., 2004; PINHO et al., 2011). O mesmo limite deve ser mantido entre o vigor avaliado pelos testes de tetrazólio e de vigor, como envelhecimento acelerado.

Nessa pesquisa, considerando sementes do lote 4 do cultivar IAC Tatu ST, o preparo das sementes sem tegumento, concentração de 0,05% de tetrazólio, a 40 °C, por 2 horas gerou resultado de viabilidade 5% superior àquele verificado no teste de germinação em areia e de vigor 8% superior ao do envelhecimento acelerado (Tabelas 1 e 7). Entretanto, esse lote é o mais vigoroso desse cultivar e, por isso, as diferenças foram mínimas entre os testes, o que pode não ser constatado entre lotes de baixo vigor.



**Figura 14.** Coloração de sementes de amendoim, cv. IAC Tatu ST (A, B e C) e cv. Runner IAC 886 (D, E e F), submetidas às seguintes combinações de preparo e coloração: (A) com tegumento e solução de tetrazólio 0,05%, (B) sem tegumento e solução 0,05%, (C) com cotilédones separados e solução 0,05%, (D) com tegumento e solução 0,075%, (E) sem tegumento e solução 0,2%, e (F) com cotilédones separados e solução 0,075%, após pré-condicionamento por 16 horas diretamente em água a 25 °C e coloração durante duas horas a 40 °C.

É importante ressaltar que os valores absolutos obtidos para cada lote devem ser analisados juntamente com a correlação, de modo a reforçar a confiabilidade do teste de tetrazólio. A análise de correlação simples permitiu a comparação entre as metodologias do teste de tetrazólio estabelecidas na primeira etapa e os demais testes de laboratório e de emergência de plântulas em campo (Tabela 8). As discussões focaram-se na relação entre os resultados do tetrazólio (viabilidade) e os de germinação em papel e em areia, e do tetrazólio (vigor) e os de vigor.

**Tabela 8.** Análise de correlação simples (r) entre as médias dos testes de tetrazólio, viabilidade e vigor, nos diferentes preparos e dos testes de germinação em papel (G) e em areia (GA), envelhecimento acelerado (EA), condutividade elétrica (CE) e emergência de plântulas em campo (EC), realizados em oito lotes de sementes de amendoim, quatro do cv. IAC Tatu ST e quatro do cv. Runner IAC 886.

Cultivar	Teste de Tetrazólio	Avaliação	G	GA	EA	CE	EC
IAC Tatu ST	CT (0,05%)	Viabilidade	0,79 <sup>ns</sup>	0,85 <sup>ns</sup>	0,86 <sup>ns</sup>	-0,77 <sup>ns</sup>	0,98*
		Vigor	0,97*	0,92 <sup>ns</sup>	0,93 <sup>ns</sup>	-0,95*	0,92 <sup>ns</sup>
	ST (0,05%)	Viabilidade	0,89 <sup>ns</sup>	0,97*	0,98*	-0,91 <sup>ns</sup>	0,98*
		Vigor	0,96*	0,97*	0,98*	-0,99**	0,87 <sup>ns</sup>
	CS (0,05%)	Viabilidade	0,87 <sup>ns</sup>	0,94 <sup>ns</sup>	0,95 <sup>ns</sup>	-0,87 <sup>ns</sup>	0,99**
		Vigor	0,99**	0,90 <sup>ns</sup>	0,92 <sup>ns</sup>	-0,98*	0,84 <sup>ns</sup>
Runner IAC 886	CT (0,075%)	Viabilidade	0,73 <sup>ns</sup>	0,68 <sup>ns</sup>	0,91 <sup>ns</sup>	-0,86 <sup>ns</sup>	0,81 <sup>ns</sup>
		Vigor	0,76 <sup>ns</sup>	0,68 <sup>ns</sup>	0,92 <sup>ns</sup>	-0,89 <sup>ns</sup>	0,85 <sup>ns</sup>
	ST (0,1%)	Viabilidade	0,88 <sup>ns</sup>	0,85 <sup>ns</sup>	0,99**	-0,81 <sup>ns</sup>	0,72 <sup>ns</sup>
		Vigor	0,88 <sup>ns</sup>	0,83 <sup>ns</sup>	0,98*	-0,83 <sup>ns</sup>	0,75 <sup>ns</sup>
	CS (0,075%)	Viabilidade	0,82 <sup>ns</sup>	0,96*	0,95*	-0,51 <sup>ns</sup>	0,39 <sup>ns</sup>
		Vigor	0,83 <sup>ns</sup>	0,76 <sup>ns</sup>	0,95*	-0,88 <sup>ns</sup>	0,82 <sup>ns</sup>

<sup>ns</sup> não-significativo a 5%; \* significativo a 5%; \*\* significativo a 1%.

Em ambos os cultivares, os coeficientes gerados por essa análise foram considerados altos, mesmo quando não significativos. No cultivar IAC Tatu ST, apenas o preparo das sementes sem tegumento apresentou-se confiável, proporcionando melhores resultados de correlação significativa, uma vez que o teste de tetrazólio (viabilidade) associou-se com o de germinação em areia e o teste de tetrazólio (vigor) com o de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica (Tabela 8).

Todos os tipos de preparo mostraram correlação significativa entre o teste de tetrazólio visando a avaliação da viabilidade com a emergência de plântulas em campo, enquanto a avaliação do vigor por esse mesmo teste não apresentou correlação significativa com o campo. Além disso, nota-se que, por essa análise, a germinação em papel ficou mais próxima do teste de tetrazólio (vigor), diferente do esperado (Tabela 8).

Em estudo com amendoim, o teste de tetrazólio também correlacionou-se com o campo, apresentando altos coeficientes de correlação (BITTENCOURT, 1995). A

capacidade de testes conduzidos em laboratório relacionarem-se com o desempenho em campo aumenta à medida que as condições ambientais aproximam-se das ótimas (MARCOS FILHO, 1999; SCHUAB et al., 2002).

Para o cultivar Runner IAC 886, a maioria das correlações foram não significativas, apesar dos altos coeficientes de correlação. Isto é atribuído ao baixo número de amostras envolvidas na análise. O preparo das sementes com tegumento não é recomendado para esse cultivar, pois nenhuma correlação foi significativa. Os preparos sem tegumento e com cotilédones separados apresentaram bons resultados, com coeficientes de correlação significativos entre os testes de vigor e a avaliação do vigor pelo teste de tetrazólio (Tabela 8).

No entanto, o preparo com cotilédones separados foi considerado melhor, não só devido à correlação significativa entre a viabilidade e o teste de germinação em areia, mas também por ser a condição que possibilita redução da concentração da solução de tetrazólio. Esse preparo foi proposto anteriormente para sementes de amendoim (CARVALHO et al., 2009), por permitir maior contato entre solução e face interna dos cotilédones (Tabela 8).

A escolha de duas metodologias para o teste de tetrazólio em sementes de amendoim não é o desejado, uma vez que o objetivo do trabalho era a padronização de apenas um método eficiente que pudesse ser utilizado para a vasta gama de cultivares de amendoim existentes. Contudo, durante a execução da pesquisa, observou-se que os cotilédones das sementes do cultivar Runner IAC 886 eram mais aderidos um ao outro, quando comparados aos das sementes do cultivar IAC Tatu ST. Essa diferença morfológica fundamental dificultou a seleção de apenas um método para o teste de tetrazólio. Estudos envolvendo morfologia das sementes de diversos cultivares de amendoim são requeridos e podem trazer maiores avanços nessa área.

## 5. CONCLUSÃO

O teste de tetrazólio para sementes de amendoim deve ser conduzido com pré-condicionamento por 16 h a 25 °C diretamente em água, preparo sem tegumento com imersão de sementes em solução de tetrazólio 0,05%, para sementes do cultivar IAC Tatu ST, e preparo com cotilédones separados com imersão em solução de tetrazólio 0,075%, para o cultivar Runner IAC 886, com coloração por duas horas a 40 °C.



## 6. REFERÊNCIAS

BAALBAKI, R.Z.; ELIAS, S.; MARCOS FILHO, J.; McDONALD, M.B. **Seed Vigor Testing Handbook**. Contribution n.32. Ithaca, NY, USA: AOSA, 2009. 341p.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237p.

BARBOSA, R.M. **Controle químico de patógenos e desempenho fisiológico de sementes de amendoim**. 2011. 46p. Dissertação (mestrado) – UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BHERING, M.C.; DIAS, D.C.F.S.; BARROS, D.I. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação do potencial fisiológico de sementes de melancia. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.27, n.1, p.176-182, 2005.

BHERING, M.C.; SILVA, R.F.; ALVARENGA, E.M.; DIAS, D.C.F.S.; PENA, M.F. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de feijão. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 8, p.1-10.

BITTENCOURT, S.R.M. **Avaliação da potencial fisiológico de sementes de amendoim através do teste de tetrazólio**. 1995. 111p. Dissertação (mestrado) – UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

BITTENCOURT, S.R.M.; VIEIRA, R.D. Metodologia do teste de tetrazólio em

amendoim. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. cap.8.2, p.1-8.

BITTENCOURT, S.R.M.; VIEIRA, R.D. Use of reduced concentrations of tetrazolium solutions for the evaluation of the viability of peanut seed lots. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.25, n.1, p.78-82, 1997.

BITTENCOURT, S.R.M.; VIEIRA, R.D. RODRIGUES, T.J.D. Criteria for peanut seed preconditioning for the tetrazolium test. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.25, n.3, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 4 ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.

CARVALHO, N.M.; SILVA, J.B.; SILVEIRA, C.M.; HORVAT, R.A. Método alternativo para submeter sementes de amendoim à solução de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.31, n.1, p.18-22, 2009.

CARVALHO, N.M.; SPINA, I.A.T. Relações entre o tamanho, a velocidade de embebição de água e a velocidade de germinação de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 33, Salvador, 1981. **Ciência e cultura (Suplemento)**, Salvador, v.33, n.7, p.6, 1981.

CAVARIANI, C.; TOLEDO, M.Z.; RODELLA, R.A.; FRANÇA NETO, J.B.; NAKAGAWA, J. Velocidade de hidratação em função de características do tegumento de sementes de soja de diferentes cultivares e localidades. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.31, n.1, p.30-39, 2009.

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.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2009/2010 – Oitavo Levantamento. Brasília: CONAB, 2010. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/7graos\\_7.4.10.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/7graos_7.4.10.pdf)>. Acesso em 01 dez. 2011.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Séries históricas: amendoim. Brasília: CONAB, 2011. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=2>>. Acesso em 01 dez. 2011.

CONAGIN, C.H.T.M. Desenvolvimento da semente do amendoim cultivado, *Arachis hypogaea* L. **Bragantia**, Campinas, v.16, n.2, p.15-33, 1957.

COSTA, N.P.; MARCOS FILHO, J.; FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. **Teste de tetrazólio em sementes de soja com précondicionamento abreviado** - Série Sementes. Londrina: Embrapa-CNPSO, 2008, 7p.

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.

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

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**, Pelotas, v.26, n.1, p.24-31, 2004.

FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C. Seed Vigor Tests: General Procedures – Tetrazolium Vigor Test. In: BAALBAKI, R.Z.; ELIAS, S.; MARCOS FILHO, J.; McDONALD, M.B. **Seed Vigor Testing Handbook**. Contribution n.32. Ithaca, NY, USA: AOSA, 2009. P. 227-306.

FRANÇA NETO, J.B. Teste de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 8, p.1-7.

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

GASPAR-OLIVEIRA, C.M.; MARTINS, C.C.; NAKAGAWA, J. Método de preparo das sementes de mamoneira (*Ricinus communis* L.) para o teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.31, n.1, p.160-167, 2009.

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.

GODOY, I.J.; MORAES, S.A.; KASAI, F.S.; MARTINS, A.L.M.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; MORAES, A.R.A.; TEIXEIRA, J.P.F. Cultivares IAC de amendoim. **O Agrônomo**, Campinas, v.55, n.1, p.26-29, 2003.

HOSOMI, S.T.; SANTOS, R.B.; CUSTODIO, C.C.; SEATON, P.T.; MARKS, T.R.; MACHADO-NETO, N.B. Preconditioning Cattleya seeds to improve the efficacy of the tetrazolium test for viability. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.39, n.1, p.178-189, 2011.

JOÃO, I. S. O papel do marketing na cadeia agroindustrial do amendoim: uma análise sob a óptica dos 4 p's do marketing. In: V Congresso Virtual Brasileiro de Administração, 2008. **Anais do V Congresso Virtual Brasileiro de Administração**, 2008.

KETRING, D.L.; BROW, R.H.; SULLIVAN, G.A. Growth physiology. In: PATTEE, H.E.; YOUNG, C.T. (Eds.) **Peanut science and technology**. Texas: American Peanut Research and Education Society, 1982. p.411-457.

KIKUTI, H.; MEDINA, P.F.; KIKUTI, A.L.P.; RAMOS, N.P. Teste de lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.30, n.1, p.10-18, 2008.

LOURENZANI, W.L.; LOURENZANI, A.E.B.S. Perspectivas do agronegócio brasileiro de amendoim. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.39, n.2, p.55-68, 2009.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.

MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.1, p.1-21.

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

MARCOS FILHO, J.; VIEIRA, R.D. Seed Vigor Tests: Procedures - Conductivity Tests. In: BAALBAKI, R.; ELIAS, S.; MARCOS FILHO, J.; McDONALD, M.B. (Ed.) **Seed Vigour Tests Handbook**. USA, Ithaca, NY: AOSA, 2009. p.186-200.

MARTINS, R. Amendoim: produção, exportação e a safra 2011/2012. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, São Paulo, v.6, n.11, p.1-5, 2011.

MARTINS, R. Amendoim: depois da boa safra em 2008, o quê esperar em 2009? **Análises e Indicadores do Agronegócio**, São Paulo, v.3, n.11, p.1-3, 2008.

MIGUEL, M.V.C.; MARCOS FILHO, J. Potassium leakage and maize seed physiological potential. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.2, p.315-319, 2002.

MORAES, S.A. Testes de sanidade em sementes de amendoim. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V. (Eds.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.347-357.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.2, p.1-24.

NAKAGAWA, J.; ALMEIDA, A.M.; MARCHI, M.J.; ROSOLEM, C.A. Estudo de teste para avaliar a potencial fisiológico das sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.5 n.3, p.63-76. 1983.

NAKAGAWA, J.; ROSOLEM, C.A. **O Amendoim: tecnologia de produção**. 1.ed. Botucatu: FEPAF, 2011. 325p.

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.

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

PINHO, D.S.; BORGES, E.E.L.; CARVALHO, A.P.V.; CORTE, V.B. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de angico. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.31, n.67, p.269-272, 2011.

ROSSETTO, C.A.V.; NOVENBRE, A.D.L.C.; MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R.; NAKAGAWA, J. Comportamento das sementes de soja durante a fase inicial do processo de germinação. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.54, n.1-2, p.106-115, 1997.

SADER, R.; CHALITA, C.; TEIXEIRA, L.G. Influência do tamanho e do beneficiamento na injúria mecânica de sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 13, n. 1, p. 45-51, 1991.

SANTOS, J.F.; ALVARENGA, R.O.; TIMÓTEO, T.S.; CONFORTO, E.C.; MARCOS FILHO, J.; VIEIRA, R.D. Avaliação do potencial fisiológico de lotes de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.33, n.4, p.743-751, 2011.

SCHUAB, S.R.P.; BRACCINI, A.L.; FRANÇA NETO, J.B.; SCAPIM, C.A.; MESCHEDE, D.K. Utilização da taxa de crescimento das plântulas na avaliação do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.24, n.2, p.90-95, 2002.

SILVA, K.R.G.; VILLELA, F.A. Pré-hidratação e avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.33, n.2, p.331-345, 2011.

USBERTI, R. Relações entre teste de envelhecimento acelerado, potencial de armazenamento e tamanho de sementes em lotes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.4, n.1, p.31-34, 1982.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M.; SADER, R. Teste de vigor e suas possibilidades de uso. In: VIEIRA, R.D. ; CARVALHO, N.M. (Org.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.31-47.

VIEIRA, R.D.; SEDIYAMA, T.; SILVA, R.F. da; SEDIYAMA, C.S.; THIEBAUT, J.T.L. Efeito do retardamento da colheita, sobre a qualidade de sementes de soja cv 'UFV-2'. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.4, n.2, p.9-22, 1982.

VIEIRA, R.D.; SEDIYAMA, T.; SILVA, R.F. da; SEDIYAMA, C.S.; THIEBAUT, J.T.L.; XIMENES, P.A. Estudo da potencial fisiológico de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), cultivar UFV-1, em quinze épocas de colheita. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2, 1981, Brasília. **Anais...** Londrina: Embrapa-CNPSO, 1981. p.633-644.

VIEIRA, M.G.G.C.; VON PINHO, E.V.R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.8, p.1-13.

WOODSTOCK, L.W. Seed imbibition: a critical period for successful germination. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v.12, n.1, p.1-15, 1988.

YARBROUGH, J. A. *Arachis hypogaea*. The seedling, its cotyledons, hypocotyls and roots. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 36, n. 4, p. 758-772, 1949.