

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO
PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE
DE SEMENTES DE TRÊS ESPÉCIES FLORESTAIS

Cristiane Alves Fogaça

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Teresinha de Jesus Deléo Rodrigues

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal – UNESP, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de concentração em Produção e Tecnologia de Sementes

Jaboticabal – SP

Fevereiro - 2003

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

CRISTIANE ALVES FOGAÇA – nasceu em União da Vitória, PR, no dia 23 de julho de 1977. Em 1996, iniciou o curso de Agronomia na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Campus de Marechal Cândido Rondon, PR, concluindo-o em 2000. Foi bolsista do CNPq na categoria de Iniciação Científica de janeiro de 1999 a julho de 2000. No ano letivo de 2000, foi monitora do laboratório de Tecnologia de Sementes, do Centro de Ciências Agrárias da UNIOESTE, Marechal C. Rondon, PR. Em 2001, iniciou a pós-graduação na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, SP, em nível de mestrado, em Agronomia, cuja área de concentração foi Produção e Tecnologia de Sementes. No período do mestrado foi bolsista da CAPES e participou do grupo de estudo de Nutrição e Melhoramento Florestal.

Homenagem especial.

Ao Prof. Rinaldo Cesar de Paula, pela orientação e amizade.

Obrigada.

“Não precisamos saber nem *“como”* e nem *“onde”*, mas existe uma pergunta que todos nós devemos fazer sempre que começamos qualquer coisa: *“Para que tenho que fazer isto?”*”

(Paulo Coelho)

Aos meus pais, Rubens e Edite,

pela lição de vida,

Ofereço

Às minhas irmãs, Luciana, Roseli e Silvia,

pelo incentivo e amizade,

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e pelos ensinamentos.

À minha família, pelo apoio e estímulo para que alcançasse meus objetivos.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, pelo aperfeiçoamento dos meus estudos.

Ao Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula, pela orientação, amizade e exemplos de competência e profissionalismo.

À Prof^{fa} Dr^a Teresinha de Jesus Deléo Rodrigues, pela co-orientação, amizade e ensinamentos que contribuíram para a minha formação pessoal e profissional.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

Ao Prof. Dr. Nelson Moreira de Carvalho, pela amizade, colaboração e incentivo nos diversos momentos.

Ao Prof. Dr. Carlos Ferreira Damião Filho, pelo auxílio durante a realização dos estudos de morfologia.

Aos funcionários do Viveiro Experimental de Plantas Ornamentais e Florestais, da FCAV/UNESP, pela auxílio e colaboração.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal, pela amizade.

Ao Instituto Ambiental do Paraná, de União da Vitória, pela doação das sementes que viabilizaram a realização deste trabalho.

Aos amigos de pós-graduação, pela amizade e apoio nos momentos difíceis.

À amiga Fabiana De Simoni, pela amizade e companheirismo.

Ao amigo Fábio Viana, pela realização dos desenhos morfológicos.

À todos, enfim, que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Espécies Estudadas	3
2.1.1. <i>Astronium graveolens</i> Jacq.	3
2.1.2. <i>Jacaranda cuspidifolia</i> Mart.	5
2.1.3. <i>Parapiptadenia rigida</i> (Benth.) Brenan.	6
2.2. Estruturas de Sementes e Plântulas	7
2.3. Teste de Tetrazólio	8
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1. Descrição Morfológica de Sementes e de Plântulas	17
3.1.1. Morfologia das sementes	17
3.1.2. Morfologia das plântulas	17
3.2. Padronização da Metodologia do Teste de Tetrazólio	18
3.3. Eficiência do Teste de Tetrazólio na Determinação da Viabilidade das Sementes	20
3.4. Análise Estatística	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1. Descrição Morfológica de Sementes e Plântulas	21
4.1.1. <i>Astronium graveolens</i> Jacq.	21
4.1.2. <i>Jacaranda cuspidifolia</i> Mart.	24
4.1.3. <i>Parapiptadenia rigida</i> (Benth.) Brenan.	26
4.2. Padronização da Metodologia do Teste de Tetrazólio	28

4.2.1. <i>Astronium graveolens</i> Jacq.	28
4.2.2. <i>Jacaranda cuspidifolia</i> Mart.	33
4.2.3. <i>Parapiptadenia rigida</i> (Benth.) Brenan.	38
4.3 Eficiência do Teste de Tetrazólio na Determinação da Viabilidade das Sementes	44
5. CONCLUSÕES	47
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Aspectos morfológicos externos e internos da semente de <i>Astronium graveolens</i>	22
Figura 2. Aspectos morfológicos do processo germinativo da semente e do estágio de plântula de <i>Astronium graveolens</i>	23
Figura 3. Aspectos morfológicos externos e internos da semente de <i>Jacaranda cuspidifolia</i>	24
Figura 4. Aspectos morfológicos do processo germinativo da semente e do estágio de plântula de <i>Jacaranda cuspidifolia</i>	25
Figura 5. Aspectos morfológicos externos e internos da semente de <i>Parapiptadenia rigida</i>	26
Figura 6. Aspectos morfológicos do processo germinativo da semente e do estágio de plântula de <i>Parapiptadenia rigida</i>	27
Figura 7. Aspecto das sementes de <i>Astronium graveolens</i> embebidas a 25 e 30°C por seis horas	28
Figura 8. Padrões de coloração obtidas em sementes de <i>Astronium graveolens</i>	29
Figura 9. Representação diagramática das classes de viabilidade para sementes de <i>Astronium graveolens</i>	32
Figura 10. Aspecto das sementes de <i>Jacaranda cuspidifolia</i> embebidas a 25 e 35°C, por 24 e 48 horas	33
Figura 11. Padrões de coloração obtidas em sementes de <i>Jacaranda cuspidifolia</i>	35
Figura 12. Representação diagramática das classes de viabilidade para sementes de <i>Jacaranda cuspidifolia</i>	37

Figura 13.	Aspecto das sementes de <i>Parapiptadenia rigida</i> embebidas a 25 e 35°C, por quatro, seis e oito horas	38
Figura 14.	Padrões de coloração de sementes de <i>Parapiptadenia rigida</i>	39
Figura 15.	Representação diagramática das classes de viabilidade para sementes de <i>Parapiptadenia rigida</i>	43

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Colorações obtidas submetendo as sementes de <i>Astronium graveolens</i> a diferentes condições de preparo e coloração ..	31
Tabela 2. Colorações obtidas submetendo as sementes de <i>Jacaranda cuspidifolia</i> a diferentes condições de preparo e coloração	36
Tabela 3. Colorações obtidas submetendo as sementes de <i>Parapiptadenia rigida</i> a diferentes condições de preparo e coloração	41
Tabela 4. Metodologias empregadas para o uso do teste de tetrazólio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de <i>Astronium graveolens</i>	45
Tabela 5. Metodologias empregadas para o uso do teste de tetrazólio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de <i>Jacaranda cuspidifolia</i>	45
Tabela 6. Metodologias empregadas para o uso do teste de tetrazólio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de <i>Parapiptadenia rigida</i>	46

PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE TRÊS ESPÉCIES FLORESTAIS

RESUMO – Este trabalho teve como objetivos padronizar a metodologia do teste de tetrazólio e avaliar a aplicabilidade deste para a determinação da viabilidade de sementes de *Astronium graveolens*, *Jacaranda cuspidifolia* e *Parapiptadenia rigida*. Inicialmente, procedeu-se à descrição morfológica de sementes e plântulas das espécies em estudo. Para a padronização do teste de tetrazólio foram avaliados diferentes condições de preparo e coloração das sementes, analisando os aspectos dos tecidos, bem como a intensidade e uniformidade de coloração. A partir dessa análise, foram elaborados diagramas de classes de viabilidade para cada espécie. A eficiência das várias condições empregadas para o teste de tetrazólio foi avaliada comparando os resultados destas com os do teste de germinação. Com relação ao teste de tetrazólio concluiu-se que diferentes condições foram eficientes na obtenção de coloração satisfatória, permitindo a diferenciação dos tecidos, mostrando-se adequadas para avaliação da viabilidade de sementes das espécies estudadas, quando comparadas com o teste de germinação. Fica a critério do analista, a escolha das condições de preparo e de coloração, conforme a praticidade operacional, economicidade do processo e urgência dos resultados.

Palavras-Chave: *Astronium graveolens*, estudo morfológico, *Jacaranda cuspidifolia*, *Parapiptadenia rigida*, teste rápido, qualidade fisiológica.

STANDARDIZATION OF THE TETRAZOLIUM TEST TO THE EVALUATION OF VIABILITY OF TREE SPECIES FOREST SEEDS

ABSTRACT – This work had objective to verify the aplicability of tetrazolium test in the evaluation of viability of *Astronium graveolens*, *Jacaranda cuspidifolia* and *Parapiptadenia rigida* seeds. Initialy, were realized morphological study of seeds and seedlings of these species. For the standardization of tetrazolium test were evaluated different conditions of prepare and coloration of the seeds, analyzing the aspects of the tissues and the intensity and uniformity of coloration. Were elaborated viability class diagrams for each specie. The efficiency of tetrazolium test were evaluated comparing the results of that with of the germination test. Concluded that different conditions of tetrazolium test were efficient in the obtaintion of satisfactory coloration, permitting to differentiation of the tissues, showing been adapted for evaluation of viability of *Astronium graveolens*, *Jacaranda cuspidifolia* and *Parapiptadenia rigida* seeds, when compared with the germination test. The choice from the prepare and of the coloration conditions, stayed to criterion of the analyst of seeds, in fuction of the facility operational and urgency of the results.

Keywords: *Astronium graveolens*, *Jacaranda cuspidifolia*, *Parapiptadenia rigida*, fast test, morphological study, phisiological quality.

1. INTRODUÇÃO

A principal finalidade da análise de sementes é determinar o valor de cada amostra para fins de semeadura ou armazenamento. Porém, para a expressão da qualidade de um lote de sementes é preciso pessoal técnico treinado, padronização de metodologia, procedimentos uniformes e programa de trabalho voltado para a aferição e aperfeiçoamento das técnicas empregadas (FIGLIOLIA et al., 1993).

A avaliação da qualidade de sementes através de testes rápidos que proporcionem resultados reproduzíveis tem sido uma busca constante dos tecnologistas de sementes (PRETE et al., 1993). Entre esses, o teste de tetrazólio vem se destacando pois, além de avaliar viabilidade e vigor, permite a identificação dos fatores que influenciam a qualidade das sementes, como danos mecânicos, danos ocasionados por secagem, insetos e deterioração por umidade (KRZYŻANOWSKI et al., 1991; BHÉRING et al., 1996 e FRANÇA-NETO, 1999). Os dados obtidos através desse teste podem ser utilizados no estabelecimento de bases para a comercialização, determinação do ponto de colheita e controle de qualidade durante o armazenamento (MARCOS FILHO et al., 1987). O teste de tetrazólio, segundo MENEZES et al. (1994), possibilita a determinação da viabilidade de maneira rápida, em um período inferior a 24 horas.

Assim, muitos autores vêm padronizando metodologias do teste de tetrazólio para espécies florestais, como os trabalhos realizados com sementes de *Genipa americana* (NASCIMENTO & CARVALHO, 1998), *Albizia hasslerii* (ZUCARELI et al., 1999), *Gleditschia amorphoides* (FOGAÇA, 2000), *Araucaria angustifolia* (SOROL & PÉREZ, 2001), *Peltophorum dubium* (OLIVEIRA et al., 2001a), *Copaifera langsdorffii* (FOGAÇA et al., 2001a), *Schizolobium parahyba* (PAULA et al., 2001), *Tabebuia serratifolia* (OLIVEIRA et al., 2001b), *Cordia trichotoma* (MENDONÇA et al., 2001) e *Bauhinia forficata* (KROHN et al., 2001). Também, este teste vem se difundindo na avaliação da manutenção da viabilidade de sementes de espécies florestais durante o armazenamento, como

Anadenanthera macrocarpa (GOMES et al., 1997), *Styphnodendron adstringens* (SILVA et al., 1997) e *Aspidosperma subincanum*, *Aspidosperma discolor* e *Tabebuia alba* (MATTEUCCI et al., 1999). Considerando que boa parte das espécies florestais apresenta sementes que exigem longo período para germinar, o desenvolvimento de testes rápidos e eficientes na avaliação da viabilidade de sementes mostra-se necessário.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivos padronizar a metodologia do teste de tetrazólio e avaliar a aplicabilidade deste para a determinação da viabilidade de sementes de *Astronium graveolens* Jacq., *Jacaranda cuspidifolia* Mart. e *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Espécies Estudadas

As descrições citadas para cada espécie em estudo se encontram relatadas em CÔRREA (1931a), CÔRREA (1931b), LORENZI (1998) e LORENZI (2000).

2.1.1. *Astronium graveolens* Jacq.

Astronium graveolens Jacq., é denominada popularmente como gonçalo-alves ou guaritá, pertence à família Anacardiaceae. É uma espécie arbórea decídua, heliófita ou esciófita, que ocorre desde o sul da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais até o Rio Grande do Sul na floresta latifoliada semidecídua da bacia do Paraná.

A árvore mede de 15 a 25m de altura, com tronco liso de 40 a 60cm de diâmetro, que desprende uma seiva de forte cheiro; ramos glabros; folhas também glabras, compostas, imparipenadas 4 a 7 pares de folíolos, pecíolo comum, com 13 a 15cm de comprimento; folíolos desiguais, os inferiores com 3 a 4cm de comprimento e, os médios e superiores com 6 a 8cm de comprimento, base subtruncada e ápice curto-acuminado, margens quase inteiras ou pouco serradas; inflorescências em panícula, flores curto-pediceladas; cálice das flores masculinas com lacinias de 1mm de largura e comprimento; pétalas com 3,5mm de comprimento, estames com filamentos de 2mm, anteras oblongo-ovais, com 1mm de comprimento, pálido-esverdeadas; frutos oblongo-obtusos ou oblongos-agudos.

Fornece magnífica madeira de lei, uma das melhores de toda a América do Sul: muito pesada, dura, brilhante, cerne vermelho com manchas e veias mais claras ou mais escuras, ou quase pretas, ondeado, tecido muito compacto, não empenado, resistente a esforços de flexão e choque, de grande durabilidade, própria para a construção naval, dormentes, postes, esquadrias, carrocerias, tacos

e tábuas para assoalhos, marcenaria de luxo e lenha. A casca exsuda uma substância resinosa, de forte cheiro, bastante desagradável, porém atribuem-se-lhe virtudes medicinais, sem prejuízo de seu emprego na indústria do curtume como material de boa qualidade, pois contem 13% de tanino.

A árvore apresenta ótimas características ornamentais que a recomendam para o paisagismo, principalmente para arborização de parques e grandes jardins.

Floresce durante os meses de agosto e setembro, com a planta totalmente desfolhada. Os frutos amadurecem nos meses de outubro e novembro. Produz anualmente grande quantidade de sementes viáveis amplamente disseminadas pelo vento. A germinação é regular e a emergência ocorre entre 8 a 14 dias.

2.1.2. *Jacaranda cuspidifolia* Mart.

Jacaranda cuspidifolia Mart., da família Bignoniaceae, conhecida como jacarandá, pau-de-colher e/ou pau-santo, é uma espécie arbórea decídua, heliófita, pioneira, seletiva xerófita, característica de encostas rochosas da floresta latifoliada e transição para o cerrado. Tem sua ocorrência nos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, São Paulo e Paraná. Sua dispersão é maior em formações secundárias do Triângulo Mineiro e Noroeste de São Paulo, onde é facilmente notada durante a floração em terrenos rochosos secos. É rara sua ocorrência no interior da floresta primária densa.

Sua altura varia entre 5 a 10m, com tronco de 30 a 40cm de diâmetro. Folhas compostas bipinadas de 20 a 50cm de comprimento, com 8 a 10 pares de jugas (pares de pinas), pinas com 10 a 15 pares de folíolos glabros. É semelhante à *Jacaranda mimosaeifolia* Don. (jacarandá-mimoso), nativa do norte da Argentina, e à *Jacaranda brasiliana* (Lam.) Pers., diferindo da última apenas porque *Jacaranda cuspidifolia* tem frutos de margens lisas e bem menores (5 a 8cm de comprimento), folíolos acuminados e lobos do cálice mais estreitos e longo-acuminados.

Sua madeira é leve, macia, de durabilidade média quando em ambientes secos, própria para marcenaria. A árvore é extremamente ornamental, principalmente quando em flor, pode ser empregada com sucesso no paisagismo em geral.

Floresce a partir do mês de setembro com a planta totalmente desfolhada, prolongando-se até outubro. Os frutos amadurecem durante os meses de agosto e setembro. Produz anualmente grande quantidade de sementes viáveis. A germinação é irregular, sendo que a emergência ocorre entre 12 a 25 dias.

2.1.3. *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan.

Parapiptadenia rigida (Benth.) Brenan, da família Mimosoideae, é conhecida como angico, angico-vermelho, angico-verdadeiro, angico-amarelo, angico-de-banhado, brinco-de-saquim ou guarucaia. É uma espécie arbórea decídua, heliófita, pioneira, indiferente às condições físicas do solo, característica e exclusiva da mata latifoliada das bacias do Paraná, Uruguai e afluentes até altitudes de 800 m, penetrando portanto nas matas dos pinhais. Nos três estados sulinos, nas bacias do Alto Uruguai e Iguaçu, é a espécie de mais ampla dispersão. É mais freqüente nas matas abertas e menos densas e, principalmente, nas associações secundárias mais evoluídas.

Árvore de rápido crescimento e que vegeta indiferentemente em terrenos secos ou úmidos, à sombra ou ao sol; sua florescência dura seis meses, o que a torna importante para a apicultura, além de ser muito ornamental, já sendo cultivada nos jardins e até arborizando ruas. Sob qualquer ponto de vista, trata-se de uma espécie de alto valor econômico. É ótima para reflorestamentos mistos de áreas degradadas de preservação permanente.

É uma espécie de grande porte, atingindo de 20 a 30m de altura, com tronco de até 12m de altura e 60 a 110cm de diâmetro, casca fina, escura, muito fendida e escamosa, ramos cilíndrico-angulosos e tenticelados, folhas compostas, bipinadas, 3 a 6 pares de pinas, com uma grossa glândula escura no pecíolo,

folíolos numerosos (10 a 20 pares), opostos, falcado-lineares, agudos, rígidos, verde-claros ou amarelados; flores amarelo-esverdeados, pequenas, dispostas em espigas axilares de 3 a 5cm de comprimento; fruto vagem coriácea, muito achatado, até 16cm de comprimento e contendo sementes muito pequenas, comprimidas e membranosas.

Fornece madeira vermelha com veias escuras, compacta, poros lineares espessos, bastante dura, pouco elástica e muito resistente, de grande durabilidade sob condições naturais, própria para obras hidráulicas e expostas, carretas, peças de resistência, postes, dormentes, esteios, construção civil e naval, revestimento de galerias, marcenaria, carpintaria, lenha e carvão. A casca é amarga, adstringente, rica em tanino e usada na indústria do curtume, útil na cura de úlceras e na inchação das pernas, a resina que a casca exsuda em notável quantidade é bem conhecida como expectorante e tem várias aplicações medicinais e industriais.

Floresce a partir de meados de novembro, prolongando-se até janeiro. A maturação dos frutos ocorre durante os meses de junho e julho. Produz anualmente grande quantidade de sementes viáveis, ocorrendo a emergência entre 5 a 10 dias.

2.2. Estruturas de Sementes e Plântulas

O conhecimento básico sobre estruturas de sementes é importante para o estudo do modo de dispersão das sementes e, conseqüentemente, da distribuição da espécie e seu comportamento dentro da população. A partir desse conhecimento podem ser feitas indicações sobre germinação, viabilidade e métodos de semeadura (KUNIYOSHI, 1983).

Para OLIVEIRA & PEREIRA (1984), esse conhecimento é necessário para a identificação e certificação do material empregado nas análises para determinar a qualidade das sementes.

Para a avaliação da viabilidade de sementes a partir do teste de tetrazólio, o conhecimento da estrutura e morfologia da semente são essenciais, pois permitem padronizar condições de preparo e coloração das sementes, como avaliar a extensão dos danos indicados pela localização das manchas sem coloração ou intensamente coloridas, a partir de observações das partes vitais, eixo embrionário (radícula, hipocótilo e plúmula) e tecido de reserva, conforme a espécie (PIÑA-RODRIGUES & VALENTINI, 1995).

Muitos autores ressaltam que além da unidade de dispersão é imprescindível um melhor conhecimento da germinação, do crescimento e do estabelecimento da plântula para compreender o ciclo biológico e a regeneração natural da espécie. Assim, os aspectos morfológicos das plântulas vêm sendo enfatizados já há algum tempo, para identificar as plantas de uma determinada região, diferenciar as espécies em banco de sementes, estudar a ecologia da espécie, como para facilitar a interpretação dos testes de germinação, em laboratório, pelos tecnologistas e analistas de sementes (OLIVEIRA, 1993).

Nos testes de laboratório, segundo as Regras para Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 1992), as sementes são consideradas germinadas quando demonstram sua aptidão para produzir plântula normal sob condições ideais, ou seja, suas estruturas essenciais precisam estar em estado suficiente de desenvolvimento, que permitam a identificação de plântulas anormais que não teriam possibilidade de produzir plantas normais. Para as espécies florestais nativas do Brasil não existem padrões para que a avaliação dos testes de germinação seja feita com segurança, como existe para a maioria das grandes culturas.

Diversas pesquisas em morfologia de sementes e plântulas de espécies arbóreas, vêm sendo realizadas, como os trabalhos desenvolvidos com *Dipteryx alata* (FERREIRA et al., 1998a), *Terminalia argentea* (FERREIRA et al., 1998b), *Borojoa sorbilis* (BRAGA et al., 1999), *Eremanthus incanus* (DAVIDE et al., 2000), *Hymenaea stigonocarpa* (BOTELHO et al., 2000), *Machaerium stipitatum* (DONDAIO & DEMATTÊ, 2000a), *Peltophorum dubium* e *Dalbergia nigra*

(DONADIO & DEMATTÊ, 2000b), *Tabebuia caraiba* e *Aspidosperma pyrifolium* (FERREIRA & CUNHA, 2000), *Pterodon pubescens* (FERREIRA et al., 2001b) e *Qualea grandiflora* (FERREIRA et al., 2001a).

2.3. Teste de Tetrazólio

O teste de tetrazólio, desenvolvido por Lakon em 1949 e posteriormente aperfeiçoado e divulgado por Moore em 1972 (PRETE et. al., 1993), baseia-se na atividade das desidrogenases nos tecidos vivos (AOSA, 1983 e MENEZES et al., 1994). Estas enzimas catalisam reações respiratórias nas mitocôndrias durante a glicólise e o ciclo de Krebs. Durante a respiração ocorre a liberação de íons de hidrogênio, com os quais o sal 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio, ou simplesmente tetrazólio, incolor e solúvel, reage formando uma substância de cor vermelha e insolúvel denominada de formazam (DELOUCHE et al., 1976; KRZYZANOWSKI et al., 1991 e FRANÇA-NETO et al., 1998).

Segundo MARCOS-FILHO et al. (1987), a reação da solução de tetrazólio com as desidrogenases processa-se no interior da célula, e como o formazam não se difunde, há uma delimitação definida entre o tecido que respira (vivo) e o que não respira (morto), pois este se apresenta descolorido. Por outro lado, tecidos muito deteriorados liberam quantidades muito pequenas de H^+ , insuficientes para que ocorra reação com o sal de tetrazólio e, conseqüentemente, a coloração dos tecidos.

A amostra de sementes a ser utilizada na realização do teste deve ser representativa do lote e coletada conforme prescrições das Regras para Análise de Sementes (RAS). Cada teste deve ser efetuado em duas repetições de 100 ou quatro repetições de 50 sementes (BRASIL, 1992). Para PIÑA-RODRIGUES & SANTOS (1988) e PIÑA-RODRIGUES & VALENTINI (1995), o número de repetições e de sementes a serem utilizados dependem do resultado que se quer obter, recomendam o emprego de quatro repetições de 100, podendo ser reduzido para, duas de 100 (boa estimativa), ou duas de 50 e/ou uma de 100 (informações

confiáveis) e, ou uma de 50 (estimativa aproximada). Para demais autores o número de sementes a ser utilizado na execução do teste varia de duas de 50 (MARCOS-FILHO et al., 1987); KRZYZANOWSKI et al., 1991 e FRANÇA-NETO et al., 1998) até quatro de 25 sementes (CAMARGO, 1997; VIEIRA & VON-PINHO, 1999; ZUCARELI et al., 1999 e FOGAÇA, 2000).

A recomendação de um menor número de sementes para o teste de tetrazólio, segundo FRANÇA-NETO et al. (1998), é devida às condições homogêneas a que são submetidas todas as sementes durante seu preparo, o que geralmente não ocorre durante a execução do teste padrão de germinação.

Várias concentrações da solução de tetrazólio podem ser utilizadas na condução do teste, dependendo da espécie avaliada, do método de preparo das sementes e da permeabilidade do tegumento (MARCOS-FILHO et al., 1987). Entretanto, em virtude do preço elevado do sal e da possibilidade de melhor visualização dos distúrbios de coloração dos tecidos e identificação dos diferentes tipos de injúrias, preferência deve ser dada para as menores concentrações (MARCOS-FILHO et al., 1987; KRZYZANOWSKI et al., 1991 e FRANÇA-NETO et al., 1998). Segundo relatos destes mesmos autores, as concentrações mais utilizadas são 0,075; 0,1; 0,2; 0,5 e 1,0%.

Para obtenção de uma coloração adequada, a solução de tetrazólio deve apresentar pH entre 6 a 8 (ROCHA, 1976 e FRANÇA-NETO et al., 1998). Soluções ácidas não proporcionam coloração ideal, pois alteram a velocidade e a intensidade de coloração dos tecidos, dificultando a interpretação dos resultados (PIÑA-RODRIGUES & SANTOS, 1988).

Para ROCHA (1976), a precisão do teste não é afetada por temperaturas situadas entre 20 e 45°C. Entretanto, para se obter uma coloração mais rápida, recomenda-se colocar as sementes em recipientes com solução de tetrazólio e levá-las à estufa com temperatura entre 35 e 40°C (BHÉRING et al., 1996 e FRANÇA-NETO et al., 1998). Para espécies florestais recomenda-se o uso de temperaturas entre 30 e 40°C (PIÑA-RODRIGUES & VALENTINI, 1995). A utilização de temperaturas superiores a 45°C não é recomendada.

Conforme PIÑA-RODRIGUES & SANTOS (1988), a velocidade com que o sal de tetrazólio atinge os tecidos das sementes colorindo-os, depende do número de barreiras que este encontra. Em muitas espécies, o preparo da semente se faz necessário visando uma rápida, mas não brusca, penetração do tetrazólio. Entre os métodos de preparo mais utilizados encontram-se a punção, o corte e a retirada do tegumento. No caso de sementes de *Gleditschia amorphoides* (FOGAÇA, 2000); *Bauhinia forficata* (KROHN et al., 2001) e *Schizolobium parahyba* (PAULA et al., 2001), recomenda-se a escarificação das sementes na região oposta ao eixo embrionário até uma pequena exposição dos cotilédones, com posterior imersão em água e retirada do tegumento. A remoção do tegumento das sementes de amendoim, antes de serem submetidas à solução de tetrazólio, embora seja uma operação delicada e trabalhosa, possibilita reduzir em torno de 5 horas o tempo necessário para que estas adquiram a coloração necessária (BITTENCOURT & VIEIRA, 1999).

O corte, punção ou retirada do tegumento são facilitados pelo pré-condicionamento das sementes, que consiste na embebição das sementes e proporciona ainda uma coloração mais nítida (BHÉRING et al., 1996). Este pré-condicionamento pode ser realizado entre papel toalha ou papel de germinação umedecido (FRANÇA-NETO et al., 1998). Em trabalho realizado com fruta-de-lobo, OLIVEIRA (1997) realizou a retirada lateral do tegumento após três horas de embebição.

A embebição das sementes para a instalação do teste provoca o amolecimento das mesmas, facilitando a retirada do tegumento e os cortes de preparo, e a ativação do sistema enzimático, facilitando a penetração da solução de tetrazólio e o desenvolvimento de uma coloração mais clara e evidente. A remoção do tegumento após o pré-condicionamento, geralmente, possibilita maior uniformidade e rapidez no desenvolvimento da coloração. No entanto, os resultados podem ser alterados em virtude da ocorrência de danos ao embrião durante a remoção (MARCOS-FILHO et al., 1987; VIEIRA & VON-PINHO, 1999; ZUCARELI et al., 1999 e FOGAÇA, 2000). O período de embebição e de

exposição ao sal de tetrazólio estão inversamente correlacionados, ou seja, maior período de embebição corresponde a menor período de exposição ao sal e vice-versa (WETZEL et al., 1992).

Sementes pequenas de leguminosas e de algumas outras espécies não requerem preparo, podendo ser colocadas diretamente na solução de tetrazólio (BEWLEY & BLACK, 1994). Outras espécies, no entanto, possuem sementes com tegumento espesso e duro que deve ser removido antes da coloração, como é o caso de algumas espécies florestais (SILVA et al., 1997; ZUCARELI et al., 1999; FOGAÇA, 2000; FOGAÇA et al., 2001a; FOGAÇA et al., 2001b; KROHN et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2001a; OLIVEIRA et al., 2001b e PAULA et al., 2001). A escolha do método de preparo das sementes para o teste dependerá da rapidez e da precisão requerida assim como das características da semente (ROCHA, 1976).

Durante o período de coloração, as sementes devem ser mantidas submersas na solução de tetrazólio em ausência de luz, pois esta pode provocar alteração da coloração da solução e, portanto, possíveis erros na interpretação do teste. O período necessário para o desenvolvimento da coloração é variável de acordo com a espécie, mas geralmente varia entre 30 e 240 minutos (MARCOS-FILHO et al., 1987). Após o período de coloração, as sementes devem ser lavadas e mantidas submersas em água até o momento da avaliação (PIÑA-RODRIGUES & VALENTINI, 1995 e FRANÇA-NETO et al., 1998). Caso não seja possível a análise das sementes imediatamente após a coloração, estas podem ser mantidas em ambiente refrigerado por um período de até 12 horas. No caso de espécies florestais, as sementes podem permanecer em água no refrigerador por até 24 horas, no escuro (PIÑA-RODRIGUES & VALENTINI, 1995).

Para que a interpretação do teste de tetrazólio se torne mais eficiente e menos cansativa, recomenda-se que seja efetuada sob lupa de seis aumentos (6x), com iluminação fluorescente (KRZYZANOWSKI et al., 1991; BHÉRING et al., 1996; FRANÇA-NETO et al., 1998 e DIAS & BARROS, 1999).

A viabilidade das sementes deve ser analisada individualmente, observando-se interna e externamente os danos ocorridos, sua localização e extensão (BHÉRING et al., 1996). Maior ênfase deve ser dada aos seguintes tópicos: cor, localização das manchas, presença de fraturas e turgência dos tecidos (PIÑA-RODRIGUES & VALENTINI, 1995). A coloração é apenas um dos fatores que deve ser analisado durante a interpretação, devendo-se observar também a turgescência dos tecidos e a ausência de fraturas ou lesões localizadas em regiões vitais da semente (MARCOS-FILHO et al., 1987).

Tecidos vigorosos tendem a colorir gradual e uniformemente e, quando embebidos, apresentam-se túrgidos. A ocorrência de vermelho intenso é característica de tecidos em deterioração, que permitem maior difusão da solução de tetrazólio através das membranas celulares já comprometidas. Estes tecidos, quando expostos ao ar, perdem sua turgidez mais rapidamente que os tecidos vigorosos. A cor branca indica tecidos mortos, geralmente flácidos, que não apresentam atividade enzimática necessária para a produção do trifenilformazam (FRANÇA - NETO et al., 1998).

A interpretação precisa do teste de tetrazólio depende do conhecimento das estruturas da semente e da plântula, da germinação da semente, do entendimento do mecanismo do teste e de suas limitações, da interpretação dos padrões de coloração combinados com outros aspectos visíveis da qualidade de sementes, e da experiência em realizar testes de germinação comparativos (ROCHA, 1976 e DIAS & BARROS, 1999).

A semente como um todo deve ser tomada como base na avaliação. Basta apenas uma fratura ou um pequeno ponto morto em uma posição vital ou crítica para tornar não viável uma semente que, não fora isso, seria sadia (ROCHA, 1976). Em sementes de leguminosas, a área vital ou crítica inclui a radícula, o hipocótilo, a plúmula e a região de inserção entre os cotilédones e o eixo embrionário. Em gramíneas, a área vital da semente compreende a plúmula, a região central do escutelo, a parte superior da radícula, e a região situada entre a

plúmula e radícula, onde se encontram as raízes seminais (MARCOS-FILHO et al., 1987).

Para a aplicação do teste de tetrazólio em sementes de seringueira, WETZEL et al. (1992) tomaram como critério para a interpretação do teste os seguintes aspectos: estudo das partes vitais do embrião, tonalidade de coloração, comparação dos testes de tetrazólio já estabelecidos para espécies similares e o teste de germinação.

Melhor acuidade na interpretação do teste de tetrazólio é conseguida pela realização de testes comparativos com o de germinação (DELOUCHE et al., 1976). Uma correlação positiva entre os dois testes já foi obtida por diversos autores (FRANÇA-NETO et al., 1988; CARBONERA & LEMANSKI, 1997; MALAVASI et al., 1997b; VIEIRA & VON-PINHO, 1999; ZUCARELI et al., 1999 e FOGAÇA, 2000).

Os resultados obtidos no teste de tetrazólio tendem a ser melhores que os obtidos no teste padrão de germinação, em função de não se verificar a presença de fungos e não se identificar a ocorrência de sementes dormentes (PIÑA-RODRIGUES & SANTOS, 1988). Para evitar problemas de discrepâncias entre os resultados dos testes de tetrazólio e de germinação, recomenda-se, caso necessário, que as sementes sejam submetidas a tratamento para superação da dormência antes de realizar o teste padrão de germinação (DELOUCHE et al., 1976 e FOGAÇA, 2000).

O teste de tetrazólio apresenta as seguintes vantagens: não é afetado por diversas condições que podem alterar o teste de germinação; analisa as condições físicas e fisiológicas do embrião de cada semente individualmente; permite rápida avaliação da viabilidade; permite a identificação de diferentes níveis de viabilidade; fornece o diagnóstico da causa da perda da viabilidade das sementes; e requer equipamento simples e barato (FRANÇA-NETO et al., 1998 e FRANÇA-NETO, 1999).

Não obstante estas vantagens, o teste de tetrazólio apresenta as seguintes limitações: requer treinamento especial sobre a estrutura embrionária da semente

e sobre técnicas de interpretação; é relativamente tedioso, uma vez que as sementes são avaliadas uma a uma, requerendo experiência e paciência; embora rápido, consome maior número de homem/hora que o teste padrão de germinação; não mostra a eficiência de tratamentos químicos, nem as injúrias que estes podem causar; e requer do analista capacidade de decisão pelas características do teste (DELOUCHE et al., 1976; KRZYZANOWSKI et al., 1991; FRANÇA-NETO et al., 1998 e FRANÇA-NETO, 1999).

O teste de tetrazólio mostra-se muito promissor na avaliação da viabilidade em sementes florestais, principalmente em espécies que exigem longo período de germinação, dificultando a obtenção dos resultados. Para a maioria das espécies ainda se faz necessário definir procedimentos a serem adotados, sua divulgação e utilização em análise de rotina (PIÑA-RODRIGUES & VALENTINI, 1995).

Como alternativa ao teste de germinação, o teste de tetrazólio pode ser utilizado na avaliação da viabilidade de sementes de *Aleurites fordii*, *Cedrela fissilis*, *Jacaranda micrantha*, *Luehea divaricata* e *Hovenia dulcis* (AMARAL & ALCALAY, 1997), *Kielmeyera coriacea* (DAVIDE et al., 1997), *Magonia pubescens* (MALAVASI et al., 1997a), *Dimorphandra gardneriana* (MANN et al., 1997), *Xylopia aromatica* (MATTEUCCI et al., 1997), *Genipa americana* (NASCIMENTO & CARVALHO, 1998), *Albizia hasslerii* (MALAVASI et al., 1999) e *Gleditschia amorphoides* (FOGAÇA et al., 2001b).

3. MATERIAL E MÉTODOS

No desenvolvimento deste trabalho foram utilizadas sementes de três espécies florestais, *Astronium graveolens* Jacq. (Anacardiaceae), *Jacaranda cuspidifolia* Mart. (Bignoniaceae) e *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan (Mimosoideae), coletadas em novembro, agosto e junho de 2001, respectivamente, no município de União da Vitória (PR), localizado a 800 m de altitude, 26°13'45" latitude sul e 51°04'58" longitude oeste. As sementes adquiridas junto ao Instituto Ambiental do Paraná (IAP), situado no município de União da Vitória, foram colocadas em embalagens impermeáveis, sacos de polietileno transparente e tamboretas de fibra de madeira, e armazenadas em câmara fria (temperatura de $8 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $60 \pm 5\%$) até a realização dos testes. O experimento foi realizado entre os meses de março e agosto de 2002, nos Laboratórios de Tecnologia de Sementes e de Morfologia Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal, SP.

3.1. Descrição Morfológica de Sementes e de Plântulas

Para facilitar a interpretação do teste de tetrazólio e de germinação, realizou-se o estudo morfológico de sementes e plântulas de cada espécie em estudo.

3.1.1. Morfologia das sementes

Inicialmente, com auxílio de um paquímetro foram tomadas as medidas de comprimento, largura e diâmetro, de 25 sementes sendo os resultados apresentados pela média. A caracterização morfológica das sementes maduras foi realizada conforme DAMIÃO-FILHO & MÔRO (2001), examinando características externas das sementes secas, tais como: coloração, localização do hilo, da

micrópila e da calaza. As observações internas foram feitas mediante cortes longitudinal e transversal nas sementes, verificando a presença do tecido de reserva e o tipo, posição e forma do embrião, a forma e a posição relativa dos cotilédones e do eixo hipocótilo-radícula. As documentações das estruturas foram realizadas por meio de diagramas, com o auxílio de câmara clara, acoplada a um estereomicroscópio.

3.1.2. Morfologia das plântulas

Quatro repetições de 20 sementes foram submetidas ao teste de germinação, conduzido em caixas plásticas (11x11x3cm) com tampa, contendo duas folhas de papel de filtro umedecidas com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o seu peso. As sementes permaneceram em câmara de germinação, sob temperatura constante de 25°C e 12 horas de fotoperíodo. Diariamente foram realizadas observações, para a retirada de plântulas representativas de cada fase de desenvolvimento, as quais foram colocadas em solução fixadora de FAA (formol, álcool e água) e posteriormente, desenhadas com auxílio de câmara clara, acoplada a um estereomicroscópio. A descrição das plântulas foi feita com base em OLIVEIRA (1993) e DAMIÃO-FILHO & MÔRO (2001). Para a correta interpretação do tipo de germinação, realizou o teste de germinação complementar em caixas plásticas contendo areia peneirada.

3.2. Padronização da Metodologia do Teste de Tetrazólio

As condições utilizadas para a padronização do teste de tetrazólio variaram em função da espécie considerada, tanto no que se refere preparo das sementes (pré-condicionamento ou embebição e exposição dos tecidos) como no desenvolvimento do processo de coloração (concentração e tempo de exposição à solução de tetrazólio).

Antes e após cada pré-condicionamento determinou-se o grau de umidade das sementes, conforme prescrições das RAS, utilizando três repetições de 5 g de sementes acondicionadas em estufa a 105°C por 24 horas (BRASIL, 1992).

As sementes foram submetidas à embebição em rolos de papel umedecidos (2,5 vezes o peso do papel) acondicionados em câmaras de germinação reguladas a temperaturas de 25 e 35°C, por 6 horas para *A. graveolens*, 24 e 48 horas para *J. cuspidifolia* e, 4, 6 e 8 horas para *P. rigida*. Posteriormente à embebição, as sementes foram submetidas ou não à retirada do tegumento, seguida ou não de corte longitudinal através do centro do eixo embrionário. A combinação desses fatores foi considerada como preparo das sementes. Nesta fase, empregou-se quatro repetições de 20 sementes para cada preparo, considerando as possíveis perdas durante esse processo.

Para o processo de coloração, foram utilizadas quatro repetições de 10 sementes para cada tratamento. As sementes foram acondicionadas em recipientes plásticos de 50 mL, onde adicionou-se a solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio (pH de 6,5 a 7,0) em quantidade suficiente para cobri-las. As concentrações avaliadas foram 0,25 e 0,50% por 1 e 2 horas para *A. graveolens* e 0,050; 0,075 e 0,10% por 1, 3 e 5 horas para *J. cuspidifolia* e *P. rigida*. Uma vez expostas à solução para o desenvolvimento de coloração as sementes foram mantidas em câmara tipo B.O.D. a 35°C, na ausência de luz, durante os períodos citados.

Para todas as espécies estudadas, após o período de coloração, as soluções foram drenadas e as sementes lavadas em água corrente, mantidas imersas em água em ambiente refrigerado até o momento da avaliação.

As sementes foram analisadas uma a uma e, no caso de sementes que não foram submetidas ao corte após o pré-condicionamento, as mesmas foram seccionadas longitudinalmente através do centro do eixo embrionário com auxílio de bisturi. Para facilitar a interpretação, a visualização de todos os detalhes das sementes foi realizada com auxílio de uma lupa de mesa com lâmpada fluorescente de seis aumentos (6x).

Para a caracterização dos níveis de viabilidade foi elaborada uma representação de sementes viáveis e inviáveis, observando a presença e a localização do dano, além das condições físicas das estruturas embrionárias. A diferenciação de cores dos tecidos foi observada de acordo com os critérios estabelecidos para o teste de tetrazólio (DELOUCHE et al., 1976; BHÉRING et al., 1996 e FRANÇA-NETO, 1999): vermelho brilhante ou rosa (tecido vivo e vigoroso); vermelho-carmim forte (tecido em deterioração) e branco leitoso ou amarelado (tecido morto).

A definição da melhor preparação e condições de coloração baseou-se nos aspectos dos tecidos e na intensidade e uniformidade de coloração.

3.3. Eficiência do Teste de Tetrazólio na Determinação da Viabilidade das Sementes

A eficiência do teste de tetrazólio na determinação da viabilidade das sementes das três espécies estudadas foi avaliada através da comparação dos resultados dos testes de tetrazólio e de germinação.

O teste de germinação foi conduzido com quatro repetições de 25 sementes, em rolos de papel umedecidos com água destilada na quantidade de 2,5 vezes o peso do papel. As sementes permaneceram em câmara de germinação, sob temperatura constante de 25°C e 12 horas de fotoperíodo. As avaliações foram diárias, tendo como critério a avaliação de plântulas normais, segundo prescrições das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Para o teste de tetrazólio foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes submetidas as melhores condições de preparo e de coloração, considerando a economicidade, praticidade operacional e a redução do período de avaliação do teste. O cálculo da viabilidade foi obtido através do número de sementes presentes nas categorias consideradas viáveis, e expresso em porcentagem.

3.4. Análise Estatística

Os resultados obtidos nos testes de germinação e de tetrazólio foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas através do teste de Dunnett, a 5%, adotando-se como testemunha o resultado do teste de germinação. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Descrição Morfológica de Sementes e Plântulas

4.1.1. *Astronium graveolens* Jacq.

A semente é exalbuminosa e glabra (Figura 1 A), a coloração da testa varia de marrom-claro a marrom-escuro, de textura coriácea e lisa. As sementes apresentam em média 1,2cm de comprimento e 0,2cm de diâmetro. Micrópila bem

visível, localizada na base da semente (Figura 1 A). Embrião axial, verde-claro a amarelado, com pólo radicular bem visível, cotiledonar, invaginado e papilionáceo (Figuras 1 B-D); cotilédones planos, crassos de oblongos a elípticos, dispostos no sentido longitudinal da semente (Figuras 1 C-D); eixo hipocótilo-radícula localiza-se lateralmente (Figura 1 D). Com a remoção do eixo embrionário fica uma depressão nos cotilédones.

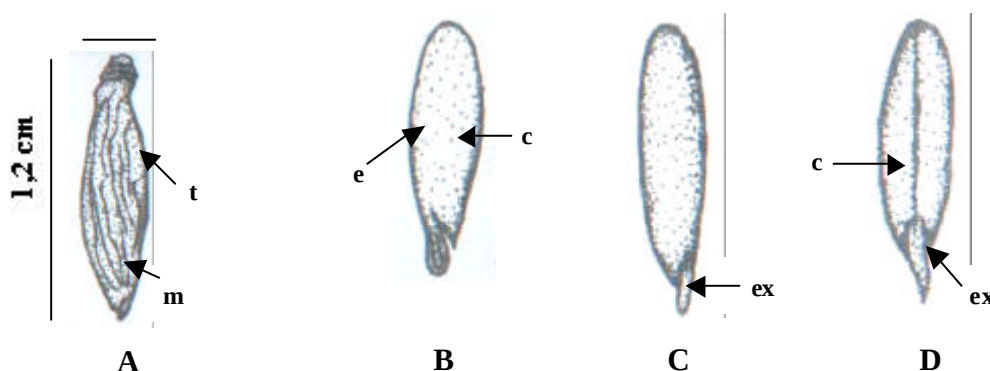


Figura 1. Aspectos morfológicos externos e internos da semente de *Astronium graveolens*: semente intacta (A); embrião em vista dorsal (B), lateral (C) e ventral (D).

Legenda: m – micrópila; t – tegumento; e – embrião; c – cotilédone; ex – eixo embrionário.

A germinação é epígea-criptocotiledonar (Figuras 2 A-I), tem início a partir do quarto dia, quando ocorre a protrusão da raiz primária na base da semente, sendo esta glabra, cilíndrica e de coloração branca, se prolongando até o décimo

dia, após a sementeira. Com o desenvolvimento pode-se perceber a formação de primórdios de raízes secundárias. Coleto definido pela diferença de coloração entre a raiz primária e o hipocótilo, cilíndrico, levemente curvo, glabro, de coloração verde-clara e com pequenas pontuações na superfície. Com o desenvolvimento completo do hipocótilo, a plúmula emerge do interior do tegumento, pois não ocorre o desprendimento do mesmo, que permanece aderido aos cotilédones até a senescência desses. Epicótilo verde-claro, levemente curvo e com pequenas pontuações na superfície. Protófilos compostos, imparipenadas, com três pares de folíolos, a ráquis termina com um folíolo, com pecíolos curtos. Folíolos verde-claros, serreados, com peciólulo curto, elíptico ou oblongo, venação reticulada, com nervuras central e secundárias bem evidentes em ambas faces. Durante o crescimento dos protófilos, surgem as folhas secundárias. A gema apical continua o seu desenvolvimento.

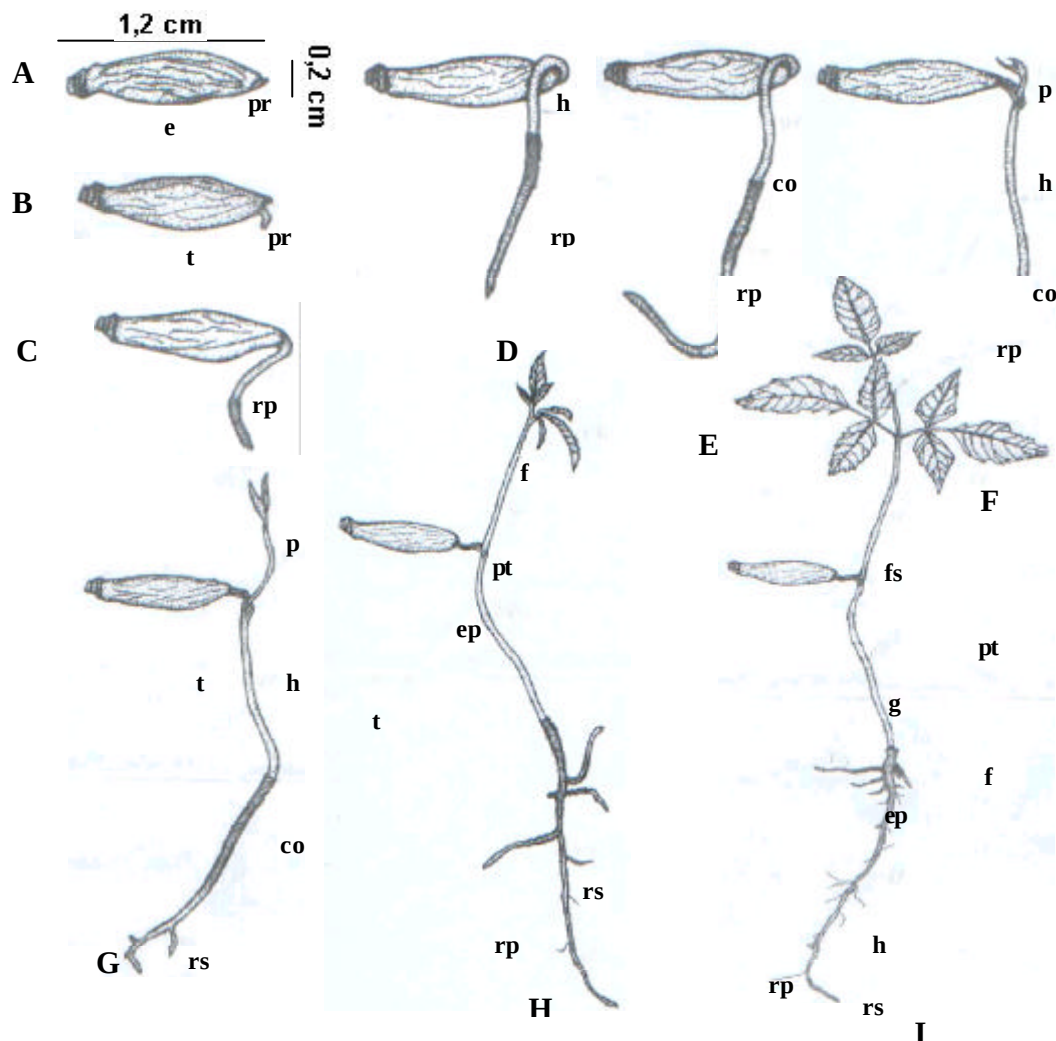


Figura 2. Aspectos morfológicos do processo germinativo da semente e do estágio de plântula de *Astronium graveolens*: germinação (A – G); plântula (H – I).

Legenda: e – embrião; pr – protrusão da raiz primária; t – tegumento; rp – raiz primária; h – hipocótilo; co – coleto; p – plúmula; rs – raiz secundária; ep – epicótilo; pt – protófilos; f – folíolos; fs – folha secundária; g – gema apical.

4.1.2. *Jacaranda cuspidifolia* Mart.

A semente é exalbuminosa, achatada e apresenta asa membranosa. Em média, apresenta 0,5cm de comprimento por 0,6cm de largura, com a asa membranosa seu comprimento médio é de 2,0cm. Nessa espécie, o tegumento é seco, com coloração variando entre marrom-claro e marrom-escuro, e textura coriácea e lisa. A micrópila é bem visível, localizada na base da semente (Figura 3 A). O embrião é axial, bastante desenvolvido, ocupando totalmente o interior da semente. É de coloração branca a amarelada e, quanto à forma, pode ser classificado como contínuo. É transverso-oblongo, notando que o eixo hipocótilo-radícula é curto, reto, cilíndrico e os cotilédones, planos, membranáceos, são mais largos do que longos. Os cotilédones são profundamente bilobados no ápice (Figuras 3 B-D).

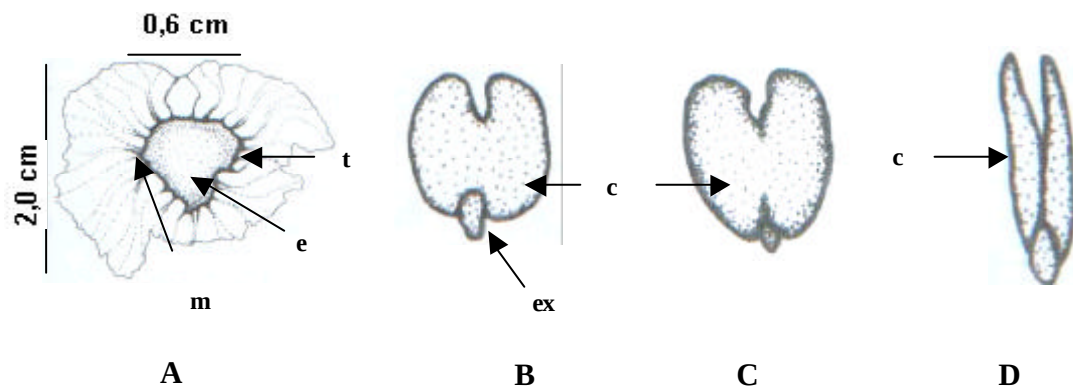
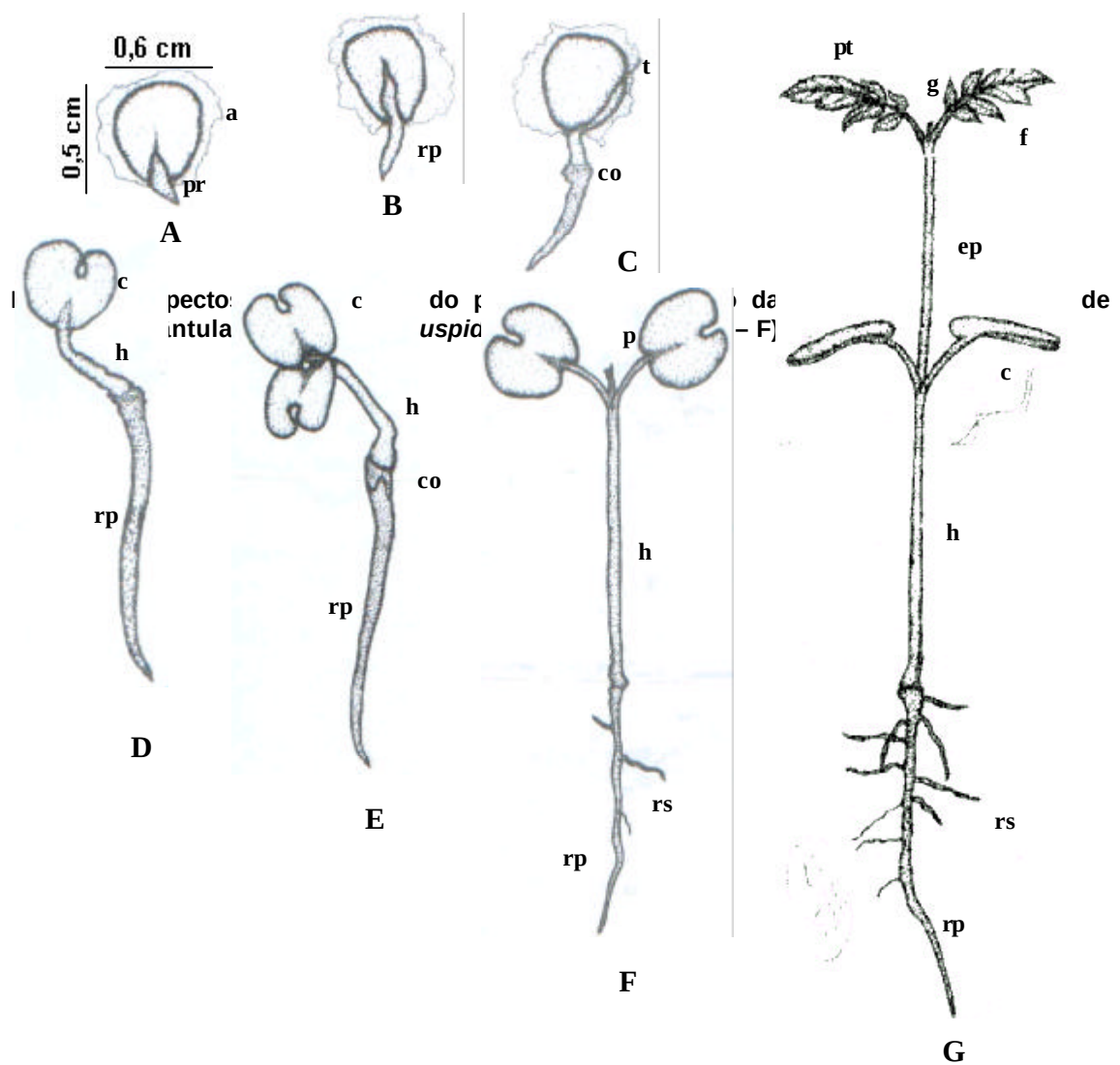


Figura 3. Aspectos morfológicos externos e internos da semente de *Jacaranda cuspidifolia*: sementes com asa (A); corte longitudinal da semente (B); embrião em vista ventral (C) e lateral (D).

Legenda: m – micrópila; t – tegumento; e – embrião; c- cotilédone; ex – eixo embrionário.

A germinação é hipógea-fanerocotiledonar (Figuras 4 A-G), tem início no décimo dia após a semeadura, quando ocorre a protrusão da raiz primária, na base da semente, sendo esta cilíndrica, glabra e de coloração branca, se prolongando até o vigésimo primeiro dia, após a semeadura. A raiz primária torna-se sinuosa e se observam pequenas pontuações na superfície. Coletivo perceptível por apresentar proeminência, ou seja, linha externa de delimitação entre o hipocótilo e a raiz primária, onde se observa que o diâmetro do hipocótilo é maior que o da raiz primária. Hipocótilo cilíndrico, reto a levemente curvo, glabro, de coloração amarelo-esverdeada e apresentando pequenas pontuações na superfície.



Legenda: a – asa; pr – protrusão da raiz primária; t – tegumento; rp – raiz primária; h – hypocótilo; co – coleto; c – cotilédones; p – plúmula; rs – raiz secundária; ep – epicótilo; pt – protófilos; f – folíolos; g – gema apical.

Cotilédones membranáceos, de coloração verde, inseridos em nós cotiledonares por meio de pecíolos, no ápice do hypocótilo. Após a abertura dos cotilédones surgem as primeiras raízes secundárias. Epicótilo verde-claro, reto, bem desenvolvido e com pequenas pontuações. Protófilos compostos, imparipenados com mais de três folíolos e a ráquis termina com um pecíolo, com algumas nervuras visíveis, com pecíolos curtos. Folíolos verde-claros, com pecíolo curto, com venação tipicamente reticulada, com nervura central bem evidente em ambas as faces e nervuras secundárias pouco evidentes. Plúmula em desenvolvimento, inserida entre os protófilos.

4.1.3. *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan.

A semente é exalbuminosa, comprimida e membranosa, de coloração variando de branca a amarelada, a coloração da testa varia de bege a marrom-claro, sendo lisa e polida. Mede cerca de 1,1cm de comprimento e 0,8cm de largura. Micrópila pouco evidente, localizada na base da semente (Figura 5 A). Embrião axial, cotiledonar, contínuo e transverso-oblongo, amarelo com pólo radicular bem visível e de coloração branca (Figuras 5 B-C); cotilédones planos e soldados (Figura 5 D); eixo embrionário levemente curvo, de coloração branca a amarela, com eixo hypocótilo-radícula curto, reto e cilíndrico (Figura 5 C). Com a remoção do eixo embrionário fica uma depressão nos cotilédones.

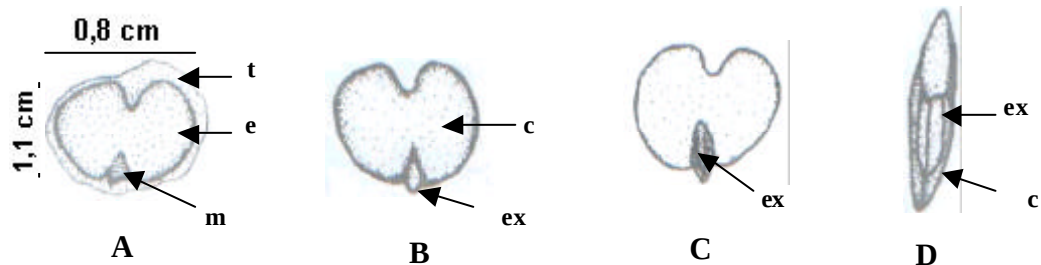


Figura 5. Aspectos morfológicos externos e internos da semente de *Parapiptadenia rigida*: semente intacta (A); embrião em vista ventral (B); corte longitudinal do embrião (C) e embrião em vista lateral (D).

Legenda: m – micrópila; e – embrião; t – tegumento; c – cotilédone; ex – eixo embrionário.

A germinação é epígea-fanerocotiledonar (Figuras 6 A-G), tem início no quarto dia após a sementeira, quando ocorre a protrusão da raiz primária, na base da semente, sendo essa glabra, cilíndrica e de coloração branca, com pequenas pontuações na superfície, se prolongando até o décimo primeiro dia, após a sementeira. Coleto definido pela diferença de pigmentação da raiz primária com relação ao hipocótilo, cilíndrico, levemente curvo, glabro, de coloração amarelo-esverdeada, passando a verde-clara na região de inserção dos cotilédones e apresentando pequenas pontuações na superfície. Cotilédones isófilos, opostos, elípticos, ovais a arredondados, cordiformes, verde-claro em ambas faces com profunda invaginação na extremidade, atenuando-se progressivamente em pecíolo. Logo após a expansão dos cotilédones, começam a surgir as raízes secundárias, ao longo da principal.

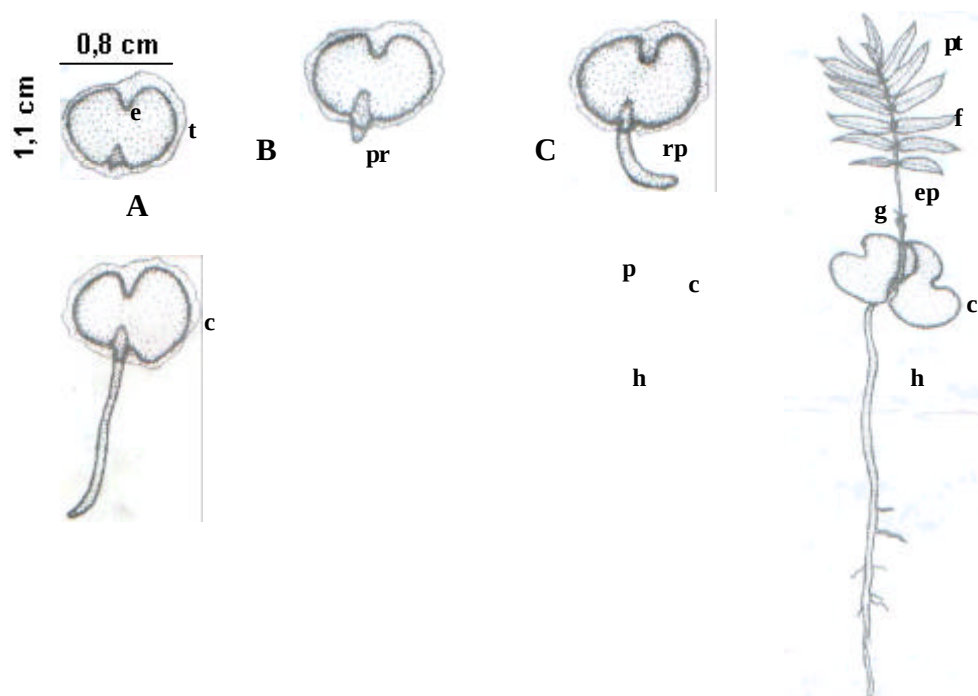
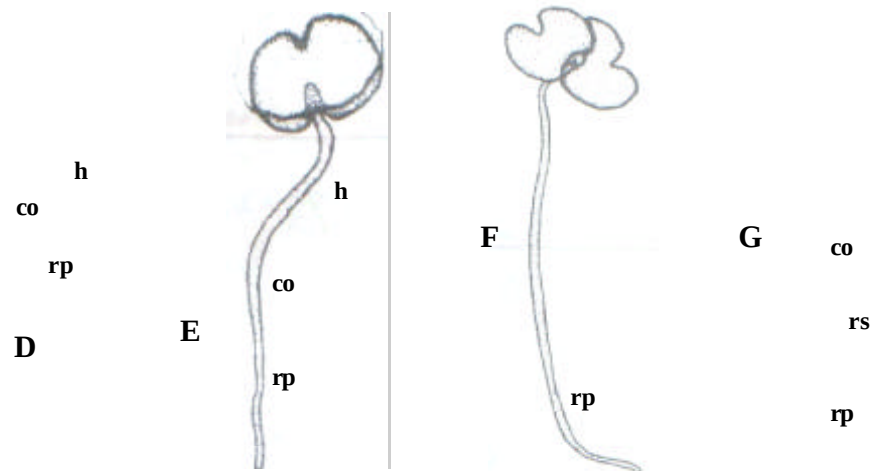


Figura 6. Aspectos morfológicos do processo germinativo da semente e do estágio de plântula de *Parapiptadenia rigida*: germinação (A – F); plântula (G).

Legenda: e –embrião; t – tegumento; pr – protrusão da raiz primária; h – hipocótilo, rp – raiz primária; co – coleto; c – cotilédones; p – plúmula; rs – raiz secundária; ep – epicótilo; pt – protófilos; f – folíolos; g – gema apical.

Epicótilo verde-claro, reto e com pequenas pontuações na superfície. Protófilos



imparipenados com 5 a 8 pares de folíolos, a ráquis termina com um folíolo, com algumas nervuras visíveis, com pecíolos curtos. Folíolos verde-claros, com peciólulo curto, venação reticulada, com nervura principal bem evidente em ambas faces.

4.2. Padronização da Metodologia do Teste de Tetrazólio

4.2.1. *Astronium graveolens* Jacq.

O teor de água inicial das sementes de guaritá foi de 8%. Após, a embebição por 6 horas a 25°C, o teor de água elevou-se para 45% e, a 35°C para 49% (Figura 7).



Sementes embebidas por 6 horas a 25°C Sementes embebidas por 6 horas a 35°C

Figura 7. Aspecto das sementes de *Astronium graveolens* embebidas a 25 e 35°C por seis horas: sementes com tegumento (A); semente sem tegumento (B).

Na Figura 8 estão ilustradas os diferentes padrões de coloração obtidos pelas sementes conforme as condições de preparo e de coloração a que foram submetidas.

Sementes embebidas por 6 horas a 25 e 35°C, sem posterior retirada do tegumento e sem corte longitudinal, independente da concentração da solução de tetrazólio e do tempo de coloração, não coloriram, possivelmente devido a presença do tegumento que impossibilitou a penetração da solução de tetrazólio. Para muitas espécies recomenda-se a retirada do tegumento devido sua espessura e dureza, sendo algumas delas, *Styphnodendron adstringens* (SILVA et al., 1997), *Albizia hasslerii* (ZUCARELI et al., 1999), *Gleditschia amorphoides* (FOGAÇA, 2000), *Copaifera langsdorffii* (FOGAÇA et al., 2001a), *Bauhinia forficata* (KROHN et al., 2001), *Peltophorum dubium* (OLIVEIRA et al., 2001a), *Tabebuia serratifolia* (OLIVEIRA et al., 2001b) e *Schizolobium parahyba* (PAULA et al., 2001).



Sementes com coloração fraca e desuniforme



Sementes com coloração adequada



Sementes com coloração intensa

Figura 8. Padrões de coloração obtidas em sementes de *Astronium graveolens*

As sementes embebidas por 6 horas a 25°C, sem posterior retirada do tegumento e com corte longitudinal através do centro do eixo embrionário e imersas em solução de tetrazólio a 0,25% por 1 hora, apresentaram coloração intensa nas regiões onde ocorreram danos devido ao corte. Nas demais concentrações e períodos de imersão as sementes apresentaram coloração adequada, porém devido a danos causados pelo corte, tornou-se difícil a diferenciação dos tecidos.

Sementes embebidas por 6 horas a 25°C, com posterior retirada do tegumento e sem corte, quando submetidas a solução de tetrazólio a 0,25% por 1 e 2 horas, apresentaram coloração satisfatória no eixo, porém fraca nos

cotilédones. Quando imersas em solução com concentração de 0,50% por 1 hora, a coloração obtida foi desuniforme e a 0,50% por 2 horas, apresentaram coloração adequada, possibilitando a diferenciação dos tecidos.

Neste mesmo pré-condicionamento, as sementes submetidas à retirada do tegumento e ao corte longitudinal apresentaram coloração desuniforme quando imersas em solução de 0,25% por 1 hora, coloração adequada em soluções de 0,25% por 2 horas e 0,50% por 1 hora, e coloração intensa, quando em solução de 0,50% por 2 horas.

Sementes embebidas por 6 horas a 35°C, sem posterior retirada do tegumento e com corte longitudinal, em solução de 0,25% por 1 hora apresentaram coloração fraca e desuniforme. Em solução com concentrações de 0,25% por 2 horas e 0,50% por 1 hora, as sementes apresentaram coloração adequada apenas no eixo embrionário. Em solução de 0,50% por 2 horas, a coloração obtida foi adequada, possibilitando a diferenciação dos tecidos.

No mesmo pré-condicionamento citado anteriormente, porém submetendo as sementes somente à retirada do tegumento, em soluções com concentração de 0,25% por 1 hora a coloração obtida foi fraca e desuniforme, a 0,50% por 2 horas, coloração intensa, e em soluções de 0,25% por 2 horas e 0,50% por 1 hora, a coloração foi adequada permitindo a diferenciação dos tecidos.

Sementes embebidas por 6 horas a 35°C, com posterior retirada do tegumento e corte longitudinal, apresentaram coloração adequada, quando imersas em soluções com concentrações de 0,25% por 1 e 2 horas e 0,50% por 1 hora.

Nos vários trabalhos, as características consideradas como adequadas para avaliação da qualidade das sementes através do teste de tetrazólio são descritas como: tecidos com coloração vermelha não intensa ou rósea brilhante, tecido vivo; coloração vermelha intensa, típica de tecido em processo de deterioração e tecidos que apresentam coloração branca leitosa ou amarelada, como tecidos mortos.

Na Tabela 1 está apresentado um resumo geral das várias condições de preparo e de coloração a que foram submetidas as sementes durante o desenvolvimento do teste de tetrazólio.

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

Embebição das sementes	Retirada do tegumento	Corte longitudinal	Concentração da solução (%)	Tempo de coloração (h)	Coloração obtida
6 horas a 25°C	Sem	Sem	Todas	Todos	Não houve coloração
	Sem	Com	0,50	1	Coloração adequada
			0,25	2	Coloração adequada
			0,50		Coloração adequada
	Com	Sem	0,25	1	Coloração adequada
			0,50		Coloração adequada
			0,25	2	Coloração adequada
	Com	Com	0,50	1	Coloração adequada
			0,50		Coloração adequada
			0,25	2	Coloração adequada
6 horas a 35°C	Sem	Sem	Todas	Todos	Não houve coloração
	Sem	Com	0,50	2	Coloração adequada
	Com	Sem	0,50	1	Coloração adequada
			0,25	2	Coloração adequada
					Coloração adequada
	Com	Com	0,25	1 e 2	Coloração adequada
			0,50	1	Coloração adequada

Na Figura 9, está representada, em diagrama, a classificação dos níveis de viabilidade encontrados na padronização do teste de tetrazólio para sementes de *A. graveolens*, conforme descrições a seguir:

Classe 1 – Viável: semente com coloração rósea uniforme, apresentando tecidos com aspecto normal e firme;

Classe 2 – Viável: semente com coloração rósea uniforme e na região central dos cotilédones apresentando coloração vermelha intensa, sem atingir o eixo embrionário;

Classe 3 – Viável: semente apresentando manchas brancas e leitosas entremeadas de outras com coloração vermelha intensa;

Classe 4 – Viável: eixo embrionário e mais de 50% da região cotiledonar com coloração rósea uniforme, com áreas dispersas de coloração branca e leitosa;

Classe 5 – Inviável: eixo embrionário e mais de 50% da região cotiledonar com coloração vermelha intensa, caracterizando tecidos em deterioração;

Classe 6 – Inviável: semente com coloração vermelha intensa, indicando processo de deterioração;

Classe 7 – Inviável: eixo embrionário com coloração vermelha intensa e região cotiledonar apresentando manchas brancas e leitosas dispersas;

Classe 8 – Inviável: semente totalmente branca, apresentando tecidos flácidos.

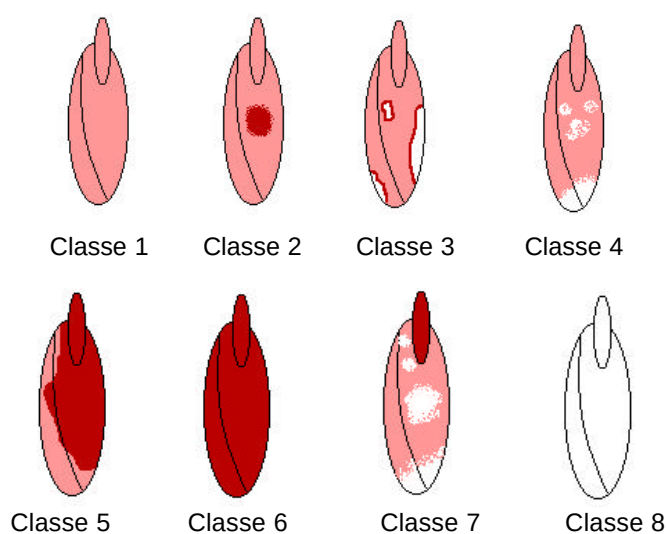


Figura 9. Representação diagramática das classes de viabilidade para sementes de *Astronium graveolens*: Viáveis (Classes 1 – 4); Inviáveis (Classes 5 – 8).

4.2.2. *Jacaranda cuspidifolia* Mart.

O teor de água inicial das sementes foi de 7%. As sementes embebidas por 24 e 48 horas, independente da temperatura de embebição, apresentaram teor de água de 54 e 67%, respectivamente (Figura 10).

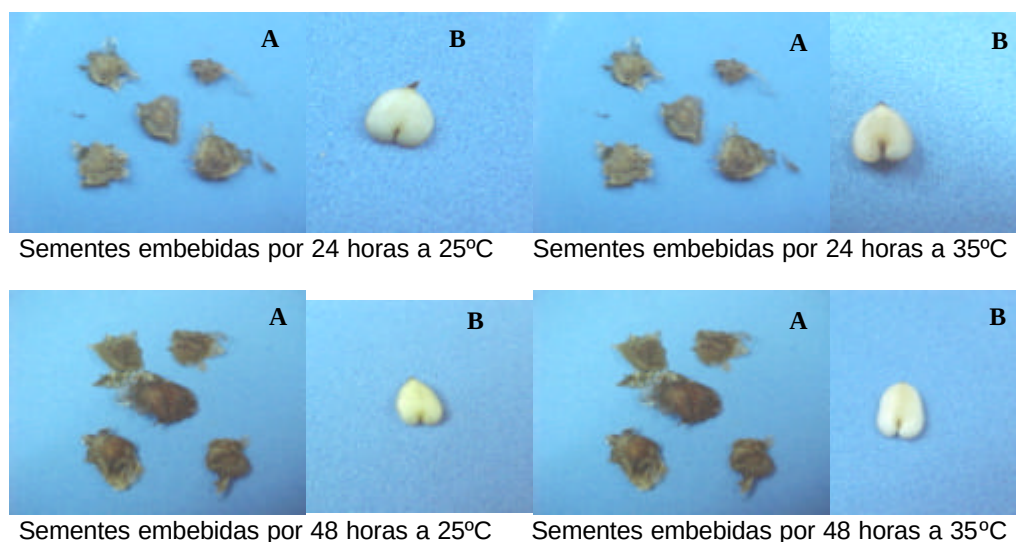


Figura 10. Aspecto das sementes de *Jacaranda cuspidifolia* embebidas a 25 e 35°C, por 24 e 48 horas: sementes com tegumento (A); semente sem tegumento (B).

Independente da concentração da solução de tetrazólio e do período de coloração, as sementes submetidas à embebição por 24 e 48 horas, a 25 e 35°C, sem retirada do tegumento e sem corte longitudinal através do centro do eixo embrionário, não desenvolveram coloração. Isto, também ocorreu em sementes de *A. graveolens*, possivelmente, devido à presença do tegumento, que impossibilitou a penetração da solução de tetrazólio.

Quando embebidas por 24 horas a 25°C, sem retirada do tegumento seguida de corte longitudinal, as sementes imersas por 1 hora nas diferentes concentrações da solução de tetrazólio, desenvolveram coloração satisfatória no eixo embrionário e manchas rosadas dispersas nos cotilédones, impossibilitando a identificação de danos. Com o aumento do período de coloração para 3 horas, independente da concentração, as sementes coloriram uniformemente e com

intensidade adequada, permitindo a análise dos resultados, devido a economicidade, não empregou a concentração de 0,10% para avaliação da eficiência do teste de tetrazólio. No período de 5 horas de coloração, as sementes apresentaram coloração intensa. Quando, as sementes foram embebidas por 24 horas a 35°C, o uso de concentrações de 0,075 e 0,10% por 3 horas, proporcionaram coloração adequada. Nos períodos de 1 e 5 horas de imersão em todas as concentrações de solução de tetrazólio, as sementes desenvolveram coloração desuniforme e intensa, respectivamente.

Sementes embebidas por 24 horas, a 25 e 35°C, com posterior retirada do tegumento e sem corte longitudinal, independente da concentração e do período de coloração, apresentaram coloração fraca e desuniforme.

Sementes embebidas por 24 horas, submetidas a retirada do tegumento e ao corte longitudinal, apresentaram coloração adequada, quando em soluções com concentrações de 0,075 e 0,10% por 3 horas e 0,050 e 0,075% por 5 horas, quando pré-condicionadas a 25°C; e 0,10% por 1 hora, a 35°C. Nos demais tratamentos a coloração foi desuniforme ou intensa. No caso do pré-condicionamento a 25°C, não foram utilizadas para a avaliação do teste de tetrazólio as duas concentrações que obtiveram colorações adequadas quando imersas por 5 horas, devido a urgência dos resultados e, no pré-condicionamento a 35°C, não utilizou a concentração de 0,10%, devido ao alto custo do sal de tetrazólio, pois um dos objetivos do teste de tetrazólio é a redução de gastos.

Os melhores resultados obtidos empregando a embebição por 48 horas, a 25 e 35°C, sem posterior retirada do tegumento e com corte longitudinal, foram os tratamentos que empregaram soluções com concentrações de 0,075 e 0,10% por 3 horas e 0,050% por 1 hora, respectivamente.

Sementes embebidas por 48 horas a 25°C, submetidas a posterior retirada do tegumento e sem corte longitudinal, submetidas a coloração em solução de 0,10% por 1 hora de coloração, apresentaram coloração adequada. Nas demais concentrações e períodos de coloração, a coloração foi desuniforme, impossibilitando a diferenciação dos tecidos. Na temperatura de 35°C para a

embebição, independente da concentração e do período de imersão à solução de tetrazólio, não houve coloração satisfatória.

As sementes embebidas por 48 horas a 25°C, submetidas a retirada do tegumento e a posterior corte longitudinal, obtiveram coloração adequada, quando imersas em solução de tetrazólio de 0,075 e 0,10% por 3 horas de coloração. Quando embebidas pelo mesmo período a 35°C, os melhores resultados foram obtidos em soluções com concentrações de 0,050 e 0,075% por 3 e 5 horas e 0,1% por 3 horas.

Apesar de algumas condições de preparo e de coloração das sementes apresentarem resultados satisfatórios, quando as sementes foram embebidas por 48 horas, optou-se por não utilizá-las, devido ao acréscimo de tempo necessário para a obtenção dos resultados pelo teste de tetrazólio.

Na Figura 11 estão ilustradas os diferentes padrões de coloração obtidos pelas sementes conforme as condições de preparo e de coloração a que foram submetidas.



Figura 11. Padrões de coloração obtidas em sementes de *Jacaranda cuspidifolia*.

Na Tabela 2 está apresentado um resumo geral das várias condições de preparo e de coloração a que foram submetidas as sementes durante o desenvolvimento do teste de tetrazólio.

Tabela 2. Colorações obtidas submetendo as sementes de *Jacaranda cuspidifolia* a diferentes condições de preparo e coloração.

Embebição das sementes	Retirada do tegumento	Corte longitudinal	Concentração da solução (%)	Tempo de coloração (h)	Coloração obtida
24 horas a 25°C	Sem	Sem	Todas	Todos	Não houve coloração
	Sem	Com	Todas	1	Coloração desuniforme
			Todas	3	Coloração adequada
			Todas	5	Coloração intensa
	Com	Sem	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Com	0,075 e 0,10	3	Coloração adequada
0,050 e 0,075			5	Coloração adequada	
24 horas a 35°C	Sem	Sem	Todas	Todos	Não houve coloração
	Sem	Com	Todas	1	Coloração desuniforme
			0,075 e 0,10	3	Coloração adequada
			Todas	5	Coloração intensa
	Com	Sem	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Com	0,10	1	Coloração adequada
48 horas a 25°C	Sem	Sem	Todas	Todos	Não houve coloração
	Sem	Com	0,075 e 0,10	3	Coloração adequada
	Com	Sem	0,10	1	Coloração adequada
	Com	Com	0,075 e 0,10	3	Coloração adequada
48 horas a 35°C	Sem	Sem	Todas	Todos	Não houve coloração
	Sem	Com	0,050	1	Coloração adequada
	Com	Sem	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Com	Todas	3	Coloração adequada
			0,050 e 0,075	5	Coloração adequada

Na Figura 12 está representada a classificação dos níveis de viabilidade encontrados na padronização do teste de tetrazólio para sementes de *J. cuspidifolia*, conforme suas descrições:

Classe 1 – Viável: semente com coloração rósea uniforme, apresentando tecidos com aspecto normal e firme;

Classe 2 – Viável: semente com pequenas áreas de coloração vermelha intensa e demais áreas com coloração rósea;

Classe 3 – Viável: semente com menos de 50% do cotilédono com coloração branca e leitosa, e coloração vermelha intensa na extremidade da radícula sem atingir o cilindro central;

Classe 4 – Viável: região no eixo embrionário com coloração branca e leitosa, sem atingir o cilindro central;

Classe 5 – Inviável: eixo embrionário apresentando coloração vermelha intensa, com demais regiões com coloração rósea, indicando tecido sadio;

Classe 6 – Inviável: semente com coloração vermelha intensa;

Classe 7 – Inviável: eixo embrionário e região vascular com coloração branca e leitosa;

Classe 8 – Inviável: semente totalmente branca, apresentando tecidos flácidos.

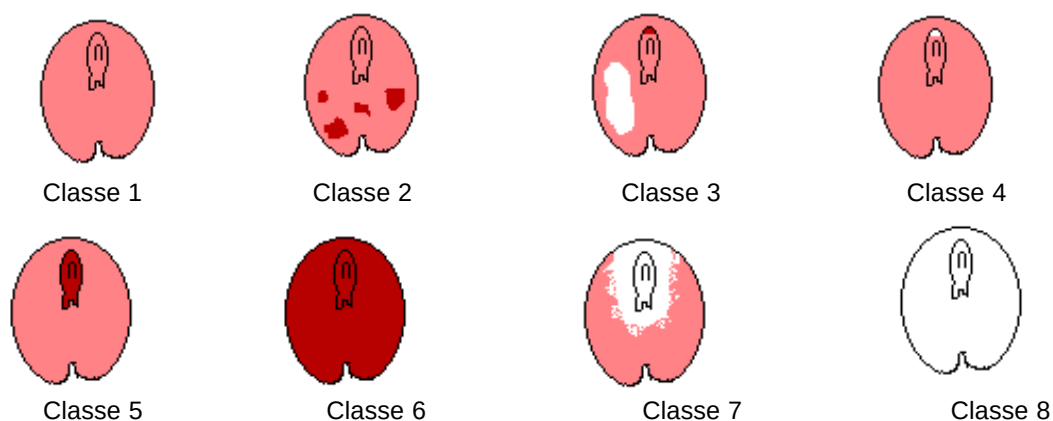


Figura 12. Representação diagramática das classes de viabilidade para sementes de *Jacaranda cuspidifolia*: Viáveis (Classes 1 – 4); Inviáveis (Classes 5 – 8).

Legenda: Vermelha intensa Rósea Branca

4.2.3. *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan.

O teor de água inicial das sementes de guarucaia foi de 14%. Quando submetidas a 25 e 35°C, as sementes apresentaram 64 e 68%, após 4 horas de embebição e 69 e 71% em ambos períodos de 6 e 8 horas de embebição, respectivamente (Figura 13).

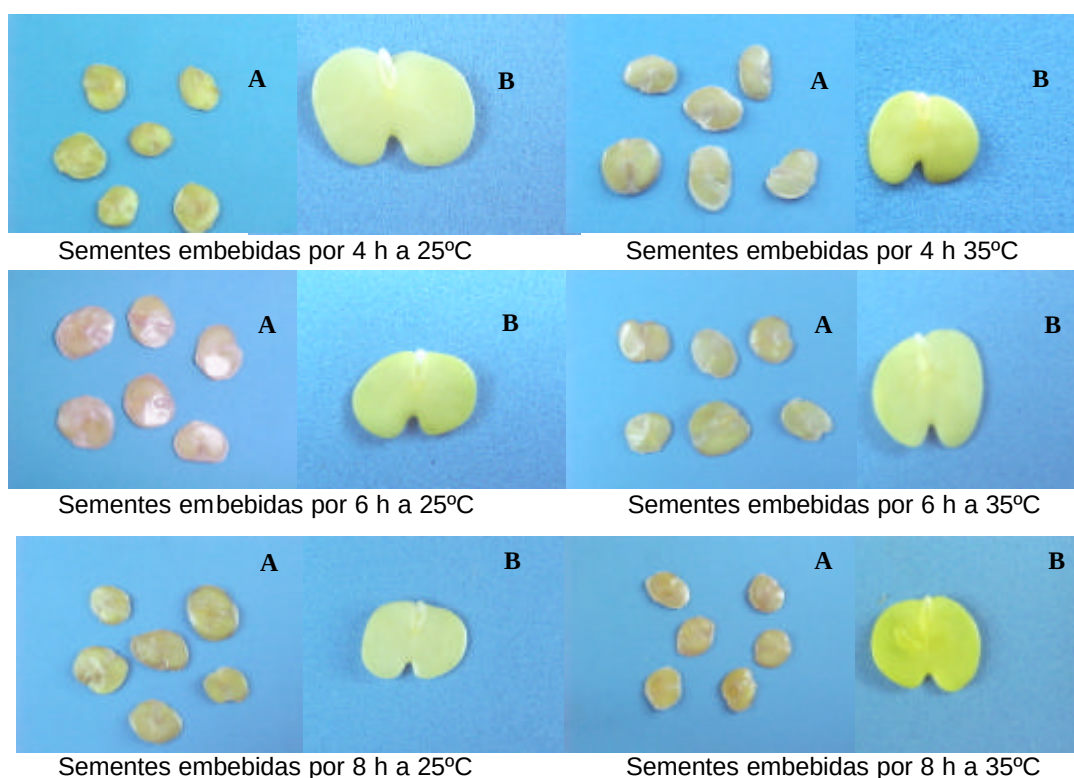


Figura 13. Aspecto das sementes de *Parapiptadenia rigida* embebidas a 25 e 35°C por quatro, seis e oito horas: sementes com tegumento (A); semente sem tegumento (B).

Na Figura 14 estão ilustradas os diferentes padrões de coloração obtidos pelas sementes conforme as condições de preparo e de coloração a que foram submetidas.

Independente das concentrações e períodos de coloração, as sementes embebidas por 4, 6 e 8 horas, a 25 e 35°C, sem posterior retirada do tegumento e

sem corte longitudinal, não coloriram. Possivelmente, a presença do tegumento impediu a penetração da solução de tetrazólio. Este problema também foi observado para sementes de *A. graveolens* e *J. cuspidifolia*, entre outras mencionadas.

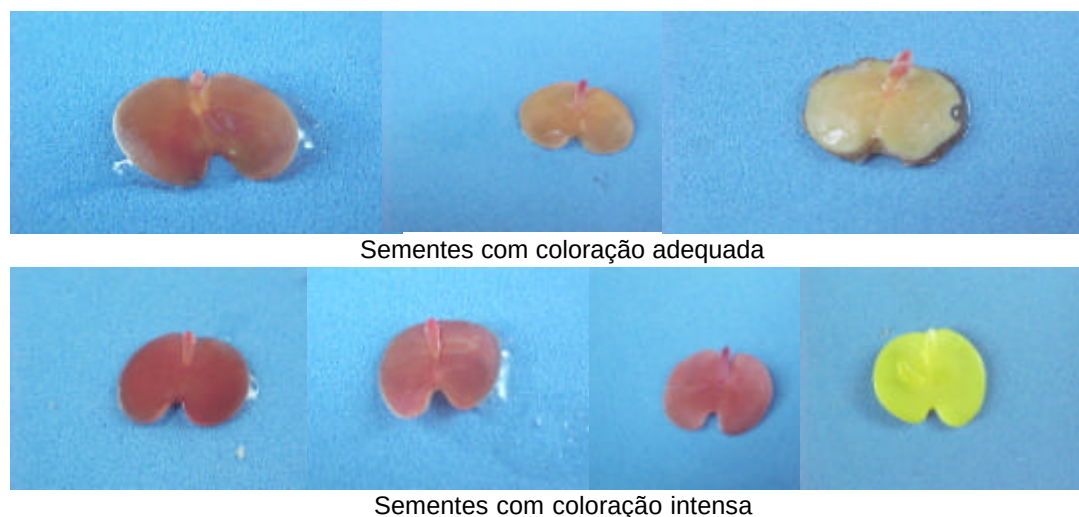


Figura 14. Padrões de coloração de sementes de *Parapiptadenia rigida*

Sementes embebidas por 4 horas, a 25 e 35°C, submetidas ou não à retirada do tegumento seguidas de corte longitudinal através do centro do eixo embrionário, independente da concentração e do período de coloração, muitas sementes coloriram apenas o eixo embrionário e outras apresentaram manchas rosadas dispersas, ou seja, nenhum destes tratamentos foram eficientes.

No pré-condicionamento, anteriormente citado, retirando o tegumento e não efetuando o corte longitudinal, as sementes embebidas a 25°C, apresentaram coloração adequada em todas as concentrações no período de 1 hora de coloração e, a 0,050 e 0,075% por 5 horas. Quando embebidas a 35°C, os melhores resultados foram obtidos nas concentrações de 0,050 e 0,075% por 3 horas. As demais concentrações e períodos de coloração resultaram em coloração desuniforme ou intensa. Devido a dificuldade para a retirada do tegumento das

sementes embebidas por 4 horas a 25°C, não empregou tais condições de preparo e de coloração para avaliação do teste de tetrazólio.

Sementes embebidas por 6 horas, a 25 e 35°C, submetidas ou não à retirada do tegumento e com corte longitudinal, em todas as concentrações e períodos de imersão em solução de tetrazólio, não obtiveram intensidade e uniformidade de coloração satisfatória. Com a retirada do tegumento e sem corte longitudinal, as sementes apresentaram coloração adequada quando submetidas a 0,050% por 5 horas e 0,075% por 3 horas, no caso da pré-embebição a 25°C e, em todas as concentrações por 3 horas de coloração, quando pré-embebidas a 35°C. Procurando reduzir o tempo necessário para a obtenção dos resultados do teste de tetrazólio, não utilizou a concentração de 0,050% por 5 horas.

As sementes submetidas ao pré-condicionamento de embebição por 8 horas, a 25 e 35°C, sem retirada do tegumento com posterior corte longitudinal, independente da concentração e do período de coloração, apresentaram coloração desuniforme, ou seja, manchas dispersas nos cotilédones sem atingir o eixo embrionário ou ainda, com coloração apenas do eixo embrionário, ou com coloração intensa. Exceção se faz ao tratamento que submeteu as sementes embebidas a 35°C, à coloração em solução de 0,050% por 5 horas, o qual possibilitou a diferenciação dos tecidos, com intensidade e uniformidade de coloração adequadas.

O pré-condicionamento de embebição por 8 horas, com retirada do tegumento e sem corte longitudinal através do centro do eixo embrionário, apresentou coloração adequada, quando em solução de 0,050% por 3 horas (pré-embebição a 25°C) e, 0,075 e 0,1% por 1 hora e 0,050% por 3 e 5 horas (pré-embebição a 35°C). As demais concentrações e períodos de coloração não proporcionam coloração que possibilitasse a avaliação da viabilidade de sementes dessa espécie.

Sementes submetidas a retirada do tegumento e ao corte longitudinal, após a embebição por 8 horas, a 25 e 35°C, não apresentaram coloração satisfatória.

Apesar de muitas das condições de preparo e de coloração, as quais as sementes embebidas por 8 horas a 25 e 35°C foram submetidas resultarem em coloração adequada, essas não foram utilizadas, devido o acréscimo no tempo.

Na Tabela 3 está apresentado um resumo geral das várias condições de preparo e de coloração a que foram submetidas as sementes durante o desenvolvimento do teste de tetrazólio.

Tabela 3. Colorações obtidas submetendo as sementes de *Parapiptadenia rigida* a diferentes condições de preparo e coloração.

Embebição das sementes	Retirada do tegumento	Corte longitudinal	Concentração da solução (%)	Tempo de coloração (h)	Coloração obtida
4 horas a 25°C	Sem	Sem	Todas	Todos	Não houve coloração
	Sem	Com	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Com	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Sem	Todas	1	Coloração adequada
			0,050 e 0,075	5	Coloração adequada
4 horas a 35°C	Sem	Sem	Todas	Todos	Não houve coloração
	Sem	Com	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Com	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Sem	0,050 e 0,075	3	Coloração adequada
6 horas a 25°C	Sem	Sem	Todas	Todos	Não houve coloração
	Sem	Com	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Com	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Sem	0,075	3	Coloração adequada

Continua..

... continuação da Tabela 3

Embebição das sementes	Retirada do tegumento	Corte longitudinal	Concentração da solução (%)	Tempo de coloração (h)	Coloração obtida
6 horas a 25°C	Com	Sem	0,050	5	Coloração adequada
6 horas a 35°C	Sem	Sem	Todas	Todos	Não houve coloração
	Sem	Com	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Com	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Sem	Todas	3	Coloração adequada
8 horas a 25°C	Sem	Sem	Todas	Todos	Não houve coloração
	Sem	Com	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Com	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Sem	0,050	3	Coloração adequada
8 horas a 35°C	Sem	Sem	Todas	Todos	Não houve coloração
	Sem	Com	0,050	5	Coloração adequada
	Com	Com	Todas	Todos	Coloração desuniforme
	Com	Sem	0,075 e 0,10	1	Coloração adequada
			0,050	3 e 5	Coloração adequada

Na Figura 15 está representada, em diagrama, a classificação dos níveis de viabilidade encontrados na padronização do teste de tetrazólio para sementes de *P. rigida*, conforme descrições a seguir:

Classe 1 – Viável: semente com coloração rósea uniforme e todos os tecidos com aspecto normal e firme;

Classe 2 – Viável: semente apresentando menos de 50% do cotilédone com coloração vermelha intensa, identificando tecido em deterioração;

Classe 3 – Viável: extremidade da radícula com coloração branca e leitosa e vermelha intensa, sem atingir o eixo central, além de apresentar manchas branca-leitosa e vermelha intensa dispersas;

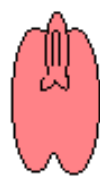
Classe 4 – Viável: semente apresentando menos de 50% da região cotiledonar com coloração branca e leitosa, caracterizando tecido morto;

Classe 5 – Inviável: coloração vermelha intensa na extremidade da radícula atingindo o cilindro central. Áreas do cotilédono apresentando tecidos em deterioração (vermelha intensa);

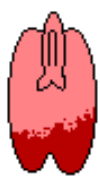
Classe 6 – Inviável: semente totalmente com coloração vermelha intensa, indicando processo de deterioração;

Classe 7 – Inviável: eixo embrionário com mancha vermelha intensa na radícula se prolongando ao redor do cilindro central, que apresentou coloração branca e leitosa. Parte da região vascular com coloração branca e leitosa, dificultando o transporte de reservas do cotilédono;

Classe 8 – Inviável: semente totalmente morta, apresentando tecidos flácidos com coloração branca e leitosa.



Classe 1



Classe 2



Classe 3



Classe 4



Classe 5



Classe 6



Classe 7



Classe 8

Figura 15. Representação diagramática das classes de viabilidade para sementes de *Parapiptadenia rigida*: Viáveis (Classes 1 – 4); Inviáveis (Classes 5 – 8).

Legenda: Vermelha intensa Rósea Branca

4.3. Eficiência do Teste de Tetrazólio na Determinação da Viabilidade das Sementes

Conforme discutidas e justificadas nos itens 4.2.1 a 4.2.3., as condições empregadas para a avaliação da eficiência do teste de tetrazólio, foram definidas levando em consideração, a facilidade de exposição dos tecidos, a economicidade e a rapidez para obtenção dos resultados.

Nas Tabelas 4, 5 e 6 estão apresentadas as condições de preparo e de coloração que proporcionaram coloração adequada às sementes de *A. graveolens*, *J. cuspidifolia* e *P. rigida*, respectivamente, bem como a viabilidade estimada por essas e pelo teste de germinação. Para a estimação do nível de viabilidade das sementes pelo teste de tetrazólio, estas foram analisadas uma a uma, conforme os diagramas das classes de viabilidade apresentados na Figura 9, para *A. graveolens*, na Figura 12, para *J. cuspidifolia* e na Figura 15, para *P. rigida*.

Conforme os resultados da Tabela 4, observou-se que à exceção da metodologia 6 (embebição das sementes por 6 horas a 35°C, com posterior retirada do tegumento e com corte longitudinal através do eixo embrionário, e imersão das sementes por 1 hora em solução de tetrazólio a 0,25%) que superestimou o nível de viabilidade das sementes de *A. graveolens*, as demais metodologias empregadas para o desenvolvimento do teste de tetrazólio não proporcionaram estimativas de viabilidade das sementes diferentes do resultado obtido no teste de germinação.

Os resultados apresentados na Tabela 5 demonstraram que para sementes de *J. cuspidifolia*, apenas a metodologia 2 (embebição por 24 horas a 25°C, sem retirada do tegumento e com corte longitudinal, e imersão em solução de tetrazólio a 0,075% por 3 horas) diferiu estatisticamente do resultado do teste de germinação, sendo ainda essa a que apresentou o maior valor de viabilidade, possivelmente devido a heterogeneidade da amostra ou a concentração que possibilitou ocultar a real condição que as sementes apresentavam.

Tabela 4. Metodologias empregadas para o uso do teste de tetrazólio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Astronium graveolens*

Metodologia	Embebição das sementes	Retirada do tegumento	Corte longitudinal	Concentração da solução (%)	Tempo de coloração (h)	Viabilidade ¹ (%)
						Tetrazólio
1	6 horas a 25°C	Com	Sem	0,50	2	72 b
2	6 horas a 25°C	Com	Com	0,25	2	75 b
3	6 horas a 25°C	Com	Com	0,50	1	75 b
4	6 horas a 35°C	Com	Sem	0,25	2	68 b
5	6 horas a 35°C	Com	Sem	0,50	1	72 b
6	6 horas a 35°C	Com	Com	0,25	1	83 a
7	6 horas a 35°C	Com	Com	0,25	2	69 b
8	6 horas a 35°C	Com	Com	0,50	1	72 b
9	6 horas a 35°C	Sem	Com	0,50	2	75 b
Porcentagem de germinação						71 b

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Dunnett, a 5%.

Tabela 5. Metodologias empregadas para o uso do teste de tetrazólio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Jacaranda cuspidifolia*

Metodologia	Embebição das sementes	Retirada do tegumento	Corte longitudinal	Concentração da solução (%)	Tempo de coloração (h)	Viabilidade ¹ (%)
						Tetrazólio
1	24 horas a 25°C	Sem	Com	0,050	3	76 b
2	24 horas a 25°C	Sem	Com	0,075	3	82 a
3	24 horas a 25°C	Com	Com	0,075	3	69 b
4	24 horas a 25°C	Com	Com	0,10	3	69 b
5	24 horas a 35°C	Sem	Com	0,075	3	76 b
6	24 horas a 35°C	Sem	Com	0,10	3	74 b
Porcentagem de germinação						72 b

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Dunnett, a 5%.

Na Tabela 6, estão apresentadas as porcentagens médias da viabilidade através do teste de tetrazólio e teste de germinação para sementes de *P. rigida*. Nesta, fica evidenciado que a metodologia 2 (embebição por 4 horas a 35°C, com posterior retirada do tegumento e sem corte longitudinal, e imersão em solução a 0,075% por 3 horas) proporcionou diferença significativa em relação ao teste de germinação. As demais metodologias foram eficientes na determinação da viabilidade das sementes desta espécie, quando comparadas ao teste de germinação.

Tabela 6. Metodologias empregadas para o uso do teste de tetrazólio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Parapiptadenia rigida*

Metodologia	Embebição das sementes	Retirada do tegumento	Corte longitudinal	Concentração da solução (%)	Tempo de coloração (h)	Viabilidade ¹
						Tetrazólio
1	4 horas a 35°C	Com	Sem	0,050	3	70 a
2	4 horas a 35°C	Com	Sem	0,075	3	62 b
3	6 horas a 25°C	Com	Sem	0,075	3	75 a
4	6 horas a 35°C	Com	Sem	0,050	3	68 a
5	6 horas a 35°C	Com	Sem	0,075	3	70 a
6	6 horas a 35°C	Com	Sem	0,10	3	66 a
Porcentagem de germinação						70 a

⁽¹⁾ Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na coluna e minúsculas na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Dunnett, a 5%.

5. CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos, concluiu-se que diferentes condições foram eficientes na obtenção de coloração satisfatória, permitindo a diferenciação dos tecidos, mostrando-se adequadas para avaliação da viabilidade de sementes das espécies estudadas, quando comparadas com o teste de germinação.

Considerando a praticidade operacional, economicidade do processo e urgência dos resultados, recomenda-se as seguintes condições de preparo e de coloração:

- i) *Astronium graveolens*: embebição por 6 horas a 35°C, com posterior retirada do tegumento e sem corte longitudinal, em solução com concentração de 0,25% por 2 horas e 0,50% por 1 hora;
- ii) *Jacaranda cuspidifolia*: embebição por 24 horas a 35°C, sem posterior retirada do tegumento e com corte longitudinal, em solução de tetrazólio de 0,075 por 3 horas.
- iii) *Parapiptadenia rigida*: embebição por 4 horas a 35°C, com posterior retirada do tegumento e sem corte longitudinal, em solução de tetrazólio de 0,050% por 3 horas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, D.M.I.; ALCALAY, N. Emprego do teste de tetrazólio em cinco espécies florestais do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10., 1997, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**. Curitiba: ABRATES, 1997. p.221.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS – AOSA. **Seed vigour testing handbook**. 1983, 93p. (Contribution, 32).
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seed physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum, 1994. 420p.
- BHÉRING, M.C.; SILVA, R.F.; ALVARENGA, E.M.; DIAS, D.N.F.S.; PENA, M.F. **Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio**. Viçosa: UFV, 1996. 27p.
- BITTENCOURT, S.R.M.; VIEIRA, R.D. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de amendoim. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B.(Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.8.2-1 – 8.2-8.
- BOTELHO, S.A.; FERREIRA, R.A.; MALAVASI, M.M.; DAVIDE, A.C. Aspectos morfológicos de frutos, sementes, plântulas e mudas de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne) – Fabaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.144-152, 2000.
- BRAGA, L.F.; SOUZA, M.P.; BRAGA, J.F.; SÁ, M.E. Efeito da temperatura na germinação de sementes de purui (*Borojoa sorbilis* (DuRoi) Cuatrecasas – Rubiaceae): morfologia das sementes e das plântulas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.21, n.2, p.47-52, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SMDA/DNDV/CLAV, p. 79-190, 1992.
- CAMARGO, I.V. **Estudos sobre a propagação da castanheira-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.)**. 1997. 126p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.
- CARBONERA, R.; LEMANSKI, E.B. Comparação entre os testes de germinação e de tetrazólio na análise de rotina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10., 1997, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**. Curitiba: ABRATES, 1997. p.105.
- CORRÊA, M.P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v.1, 1931a. p.127-128.

CORRÊA, M.P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v.3, 1931b. p.443-444.

DAMIÃO FILHO, C.F.; MÔRO, F.V. **Morfologia externa das espermatófitas**. Jaboticabal: FUNEP, 2001. 101p.

DAVIDE, A.C.; MALAVASI, M.M.; OLIVEIRA, L.M.; MACHADO, C.F.; TONETTI, O.A.O. Uso do teste de tetrazólio para avaliar a qualidade de sementes de pau-santo (*Kielmeyera coriacea* (Spr.) Mart.) – Guttiferae. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10., 1997, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**. Curitiba: ABRATES, 1997. p.219.

DAVIDE, A.C.; FERREIRA, R.A.; BOTELHO, S.A.; MALAVASI, M.M.; Aspectos morfológicos de frutos, sementes, plântulas e mudas de candeinha (*Eremanthus incanus* Less. - Asteraceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.127-133, 2000.

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

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

DONADIO, N.M.M.; DEMATTÊ, M.E.S.P. Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de sapuva (*Machaerium stipitatum* (DC.) Vog.) – Fabaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.193-199, 2000a.

DONADIO, N.M.M.; DEMATTÊ, M.E.S.P. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) e jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex Benth.) – Fabaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.64-73, 2000b.

FERREIRA, R.A.; BOTELHO, S.A.; DAVIDE, A.C.; MALAVASI, M.M. Caracterização morfológica de fruto, semente, plântula e muda de *Dipteryx alata* Vogel – baru (Leguminosae Papilionoideae). **Cerne**, Lavras, v.4, n.1, p.73-87, 1998a.

FERREIRA, R.A.; BOTELHO, S.A.; MALAVASI, M.M.; DAVIDE, A.C. Caracterização morfológica de fruto, semente, plântula e muda de capitão-do-campo (*Terminalia argentea* Mart. & Zucc. – Combretaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.2, p.441-448, 1998b.

FERREIRA, R.A.; CUNHA, M.C.L. Aspectos morfológicos de sementes, plântulas e desenvolvimento da muda de craibeira (*Tabebuia caraiba* (Mart.) Bur.) – Bignoniaceae e pereiro (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.) – Apocynaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.134-143, 2000.

FERREIRA, R.A.; DAVIDE, A.C.; TONETTI, O.A.O. Morfologia de sementes e plântulas de pau-terra (*Qualea grandiflora* Mart. - Vochysiaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.116-122, 2001a.

FERREIRA, R.A.; VIEIRA, M.G.G.C.; VON-PINHO, E.V.R.; TONETTI, O.A.O. Morfologia da semente e de plântulas e avaliação da viabilidade da semente de sucupira-branca (*Pterodon pubescens* Benth. - Fabaceae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.108-115, 2001b.

FIGLIOLIA, M.B.; OLIVEIRA, E.C.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. Análise de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (Coord.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p.137-174.

FOGAÇA, C.A. **Padronização e adequação de metodologias para avaliação da qualidade física e fisiológica de sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. – Caesalpinaceae**. 2000. 95p. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2000.

FOGAÇA, C.A.; KROHN, N.G.; SOUZA, M.A.; PAULA, R.C. Desenvolvimento do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. Caesalpinaceae. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Informativo ABRATES**. Londrina: ABRATES, 2001a. p.279.

FOGAÇA, C.A.; ZUCARELI, C.; MALAVASI, M.M.; MALAVASI, U.C.; FOGAÇA, L.A. Avaliação da eficiência do teste de tetrazólio na determinação da viabilidade de sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Informativo ABRATES**. Londrina: ABRATES, 2001b. p.279.

FRANÇA NETO, J.B.; PEREIRA, L.A.G.; COSTA, N.P.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1988. 85p.

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

FRANÇA NETO, J.B. Testes 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. p.8-1 – 8-7.

GOMES, A.P.S.; LOPES, J.C.; CAPUCHO, M.T. Estudo das características físicas e viabilidade de sementes de angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan – Fabaceae – Mimosoideae) durante o armazenamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10., 1997, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**. Curitiba: ABRATES, 1997. p.70.

KROHN, N.G.; FOGAÇA, C.A.; SOUZA, M.A.; PAULA, R.C. Preparação e coloração de sementes de *Bauhinia forficata* Link. (Caesalpinaceae) para avaliação da viabilidade através do teste de tetrazólio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Informativo ABRATES**. Londrina: ABRATES, 2001. p.278.

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

KUNIYOSHI, Y.S. **Morfologia da semente e da germinação de 25 espécies arbóreas de uma floresta com Araucária**. 1983. 233p. Dissertação (Mestrado em Silvicultura) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1983..

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2.ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, v.2, 1998. p.38.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 3. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, v.1, 2000. p.3, 38, 180.

MALAVASI, M.M.; DAVIDE, A.C.; OLIVEIRA, L.M.; MACHADO, C.F.; TONETTI, O.A.O. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tingui (*Magonia pubescens* St. Hil. – Sapindaceae), através do teste de tetrazólio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10., 1997, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**. Curitiba: ABRATES, 1997a. p.217.

MALAVASI, M.M.; DAVIDE, A.C.; OLIVEIRA, L.M.; TONETTI, O.A.O.; MACHADO, C.F.; CARVALHO, L.R. Avaliação da viabilidade de sementes de pau-santo (*Kielmyera cariacea* (Spr.) Mart. - Guttifereae) submetidas a diferentes níveis de dessecação, através do teste de tetrazólio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10., 1997, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**. Curitiba: ABRATES, 1997b. p.216.

MALAVASI, M.M.; ZUCARELI, C.; FOGAÇA, C.A. Avaliação da eficiência do teste de tetrazólio na determinação da viabilidade de sementes de farinha seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Bur. – Fabaceae-Mimosoideae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 11., 1999, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**. Curitiba: ABRATES, 1999. p.165.

MANN, R.S.; VIEIRA, M.G.G.C.; RIBEIRO, D.M.C.A.; MALAVASI, M.M. Avaliação da viabilidade de sementes de faveira (*Dimorphandra gardneriana* Benth. – Fabaceae – Mimosoideae) através do teste de tetrazólio In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10., 1997, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**. Curitiba: ABRATES, 1997. p.114.

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

MATTEUCCI, M.B.A.; GUIMARÃES, N.N.R.; TIVERON FILHO, D. Utilização do teste de tetrazólio em sementes de pimenta-do-macaco (*Xylopia aromatica* (Lam.) Mart.) – Annonaceae. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10., 1997, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**. Curitiba: ABRATES, 1997. p.117.

MATTEUCCI, M.B.A.; GUIMARÃES, N.N.R.; TIVERON FILHO, D. Utilização do teste de tetrazólio na verificação da viabilidade de três espécies do cerrado: peroba-de-gomo (*Aspidosperma subincanum* Mart.), guatambu-vermelho (*Aspidosperma discolor* A. DC. – Apocynaceae) e ipê-amarelo (*Tabebuia alba* (Cham.) sandw. – Bignoniaceae), armazenadas em câmara fria por 3, 4 e 5 anos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 11., 1999, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**. Curitiba: ABRATES, 1999. p.186.

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

MENEZES, N.L.; SILVEIRA, T.L.D.; PASSINATO, P.R. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.16, n.2, p.121-127. 1994.

NASCIMENTO, W.M.O.; CARVALHO, N.M. Determinação da viabilidade de sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.) através do teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.2, p.470-474. 1998.

OLIVEIRA, E.C. & PEREIRA, T.S. Morfologia dos frutos alados em Leguminosae – Caesalpinoideae – *Martiodendron* Gleason, *Peltophorum* (Vogel) Walpers, *Sclerolobium* Vogel, *Tachigalia* Aublet e *Schizolobium* Vogel. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v.36, n.60, p.35-42, 1984.

OLIVEIRA, E.C. Morfologia de plântulas. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (Coord.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p.175-213.

OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; DAVIDE, A.C. Utilização do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Informativo ABRATES**. Londrina: ABRATES, 2001a. p.118.

OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; VON PINHO, E.V.R.; GUIMARÃES, R.M.; VIEIRA, M.G.G.C. Avaliação de metodologias para o pré-condicionamento e tempo de incubação de sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) submetidas ao teste de tetrazólio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Informativo ABRATES**. Londrina: ABRATES, 2001b. p.257.

PAULA, R.C.; SOUZA, M.A.; KROHN, N.G.; FOGAÇA, C.A. Padronização do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Schizolobium parahyba* Vell. Blake – Caesalpinaceae. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Informativo ABRATES**. Londrina: ABRATES, 2001. p.278.

PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; SANTOS, N.R.F. Teste de tetrazólio. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.(Coord.) **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p.91-100.

PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; VALENTINI, S.R.T. Aplicação do teste de tetrazólio. In: **Manual técnico de sementes florestais**. São Paulo: Instituto Florestal, 1995. p. 61-73, (Série Registros, 14).

PRETE, C.E.C.; CICERO, S.M.; FOLEGATTI, P.R. Emergência de plântulas de soja no campo e sua relação com a embebição e condutividade elétrica das sementes. **Semina Ciencia Agricola**. v.15, n.1, p.32-37, 1993.

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

SILVA, S.C.; SANTOS, D.S.B.; SANTOS FILHO, B.G. Avaliação da qualidade física e fisiológica de sementes de barbatimão (*Styphnodendron adstringens* (Mart.) Coville – Fabaceae – Mimosoideae), submetidas ao armazenamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10., 1997, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**. Curitiba: ABRATES, 1997. p.207.

SOROL, C.B.; PÉREZ, M.A. Determinacion de la viabilidad de las semillas de araucaria (*Araucaria angustifolia* Bert. O. Ktze.) através de la prueba topográfica por tetrazolio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Informativo ABRATES**. Londrina: ABRATES, 2001. p.287.

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. p.8.1-1 - 8.1-13.

WETZEL, M.M.S.; CICERO, S.M.; FERREIRA, B.C.S. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de seringueira. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.14, n.1, p.83-88. 1992.

ZUCARELI, C.; MALAVASI, M.M.; FOGAÇA, C.A. Preparação e coloração de sementes de farinha seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Bur. – Fabaceae-Mimosoideae) para avaliação da viabilidade através do teste de tetrazólio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 11., 1999, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**. Curitiba: ABRATES, 1999. p.166.