

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

BRUNA SANTOS TERAÇÃO

PADRONIZAÇÃO PARA AVALIAÇÃO RÁPIDA DA QUALIDADE DE SEMENTES  
FLORESTAIS PELO TESTE DE TETRAZÓLIO

Sorocaba

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS - *campus* Sorocaba

BRUNA SANTOS TERAÇÃO

PADRONIZAÇÃO PARA AVALIAÇÃO RÁPIDA DA QUALIDADE DE SEMENTES  
FLORESTAIS PELO TESTE DE TETRAZÓLIO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
como requisito para obtenção de título de  
Bacharel em Ciências Biológicas da  
Universidade Federal de São Carlos - *campus*  
Sorocaba

Orientação: Prof. Dr. José Mauro Santana da  
Silva

Coorientação: Lausanne Soraya Almeida

Financiamento: Conselho Nacional de  
Desenvolvimento Científico e Tecnológico –  
CNPq.

Sorocaba

2021

Santos Teração, Bruna

Padronização para avaliação rápida da qualidade de sementes florestais pelo teste de tetrazólio / Bruna Santos Teração -- 2021. 37f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba

Orientador (a): José Mauro Santana da Silva

Banca Examinadora: Danilo Ribeiro da Costa, Bruno dos Santos Francisco

Bibliografia

1. Viabilidade. 2. Análise de sementes. 3. Tetrazólio. I. Santos Teração, Bruna. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano -  
CRB/8 6979

FOLHA DE APROVAÇÃO

**Bruna Santos Teração**

**“PADRONIZAÇÃO PARA AVALIAÇÃO RÁPIDA DA QUALIDADE DE SEMENTES  
FLORESTAIS PELO TESTE DE TETRAZÓLIO”**

Trabalho de Conclusão de Curso

Universidade Federal de São Carlos - *campus* Sorocaba

Sorocaba, 25 de fevereiro de 2021.



Orientador \_\_\_\_\_

Prof. Dr. José Mauro Santana da Silva  
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)



Examinador \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Danilo Ribeiro da Costa  
Universidade de Sorocaba (UNISO)



Examinador \_\_\_\_\_

Me. Bruno dos Santos Francisco  
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)

*À minha avó Hercília Correa (em memória), dedico  
todas as minhas conquistas e não esqueço um dia sequer.  
Meu maior exemplo de amor e de ser humano.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a professora e orientadora Fatima C. M. Piña-Rodrigues, pelos ensinamentos e paciência no decorrer do trabalho, e pela oportunidade em poder fazer parte de sua renomada equipe. E também ao professor José Mauro Santana da Silva por se dispor a presidir a banca e auxiliar em outros momentos dessa caminhada.

Aos meus amigos e colegas de trabalho do LASEM, certamente cada um teve sua contribuição para a realização das atividades, estruturando uma equipe da qual sinto muito orgulho em fazer parte. Principalmente a minha co-orientadora Lausanne Soraya de Almeida e a Ana Paula de Almeida, duas pessoas que foram essenciais na minha trajetória e desenvolvimento profissional, acadêmico e também pessoal, minha gratidão por todo o cuidado, carinho, paciência e ensinamentos. Também ao Doutorando Bruno dos Santos Francisco, que se dispôs a me ajudar sempre cheio de entusiasmo.

Aos meus amigos e colegas de classe, que tornaram esses anos de faculdade muito mais fáceis e leves, que mudaram completamente minha visão de mundo e sem dúvida me fizeram ser uma pessoa melhor.

Aos meus pais, que mesmo com o coração apertado pela distância, nunca deixaram de me apoiar, e são o motivo de eu estar aqui hoje. E também meu irmão, que sempre foi um grande aliado e companheiro.

Por fim, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, por fomentar trabalhos de iniciação científica, do qual este trabalho de conclusão surgiu, disponibilizando recursos e experiência.

## RESUMO

TERAÇÃO, Bruna Santos. **Padronização para avaliação rápida da qualidade de sementes florestais pelo teste de tetrazólio**– Universidade Federal de São Carlos, *campus* Sorocaba, Sorocaba, 2020

O potencial de uso do teste de tetrazólio para avaliação rápida de lotes de sementes de espécies florestais nativas, evidencia a necessidade de protocolos para a sua aplicação em espécies florestais. Neste trabalho buscou-se analisar a eficiência do teste de tetrazólio como técnica para fornecer rápida e segura informação sobre a qualidade das sementes. Para a realização dos testes, as sementes de *Senna macranthera* e *Senegalia polyphylla*, ambas com dormência física, após escarificação, e o *Handroanthus chrysotrichus*, foram submetidas a três concentrações de solução de 2, 3, 5 trifetil cloreto de tetrazólio (0,075; 0,5 e 1%), por diferentes tempos de imersão a 40°C. Cada semente foi analisada e classificada, em três classes de vigor, conforme a presença, extensão e posição de manchas. As sementes de *H. chrysotrichus* obtiveram coloração nas três concentrações, mas apenas em 0,5 e 0,075% não houve diferença estatística com o teste de germinação. Já as sementes de *S. macranthera* e *S. polyphylla* obtiveram uma coloração adequada apenas nas concentrações de 0,5 e 1%. Recomenda-se a adoção da concentração de 1% por 20 horas para as sementes de *S. macranthera* ou 0,5% por 24 horas, caso o tempo não seja um fator limitante. Para *S. polyphylla* a concentração mais adequada foi de 0,5%, por 6 horas, pois utiliza uma menor quantidade de sal de tetrazólio, diminuindo seu custo. E no caso do *H. chrysotrichus*, com imersão direta das sementes na solução de tetrazólio, recomenda-se a concentração de 0,5% por 6 horas ou 0,075% por 12 horas.

Palavras-chave: Viabilidade. Análise de sementes. Coloração

## **ABSTRACT**

The potential of using the tetrazolium test for rapid evaluation of seed lots of native forest species, highlights the need for protocols for its application in forest species. In this work, we sought to analyze the efficiency of the tetrazolium test as a technology to provide fast and safe information about the quality of seeds. For the tests, the seeds of *Senna macranthera* and *Senegalia polyphylla*, both with physical dormancy, after scarification, and the *Handroanthus chrysotrichus*, were submitted to three times of solution of 2, 3, 5 triphenyl tetrazolium chloride (0.075; 0, 5 and 1%), for different immersion times at 40 ° C. Each seed was analyzed and classified, in three vigor classes, according to the presence, extent and position of stains. The seeds of *H. chrysotrichus* obtained color in the three practices, but only in 0.5 and 0.075% there was no statistical difference with the germination test. The seeds of *S. macranthera* and *S. polyphylla* obtained an adequate color only in the recommendations of 0.5 and 1%. It is recommended to adopt a concentration of 1% for 20 hours for seeds of *S. macranthera* or 0.5% for 24 hours, if time is not a limiting factor. For *S. polyphylla*, the most suitable concentration was 0.5%, for 6 hours, as it uses a lower amount of tetrazolium salt, reducing its cost. And in the case of *H. chrysotrichus*, with direct immersion of the seeds in the tetrazolium solution, a concentration of 0.5% for 6 hours or 0.075% for 12 hours is recommended.

**Keywords:** Viability. Seed analysis. Color



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Coloração de sementes de <i>Senna macranthera</i> (DC. ex Collad.) H.S. Irwin Barneby submetidas ao teste de tetrazólio.....	24
Figura 2. Coloração de sementes de <i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC.) Mattos submetidas ao teste de tetrazólio.....	25
Figura 3. Coloração de sementes de <i>Senegalia polyphylla</i> (DC.) Britton Rose. submetidas ao teste de tetrazólio.....	26
Figura 4. Plântulas de <i>Senna macranthera</i> normal (A) e anormal (B) deterioração da radícula e desenvolvimento desproporcional.....	27
Figura 5. Plântulas de <i>Handroanthus chrysotrichus</i> normal (A) e anormal (B) Sistema radicular atrofiado e em deterioração.....	28
Figura 6. Plântulas de <i>Senegalia polyphylla</i> normal (A) e anormal (B) Sistema radicular retorcido.....	28
Figura 7. Regressão polinomial entre os resultados do teste de tetrazólio, nas três concentrações (0,075; 0,5 e 1%) e os resultados de germinação, índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG), para as três espécies estudadas.....	30

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Descrição dos pré-tratamentos, concentrações e tempo de imersão adotados para o pré-condicionamento das três espécies florestais estudadas para aplicação do teste de tetrazólio.....21
- Tabela 2. Dados percentuais de sementes coloridas pelo teste de tetrazólio, por tempo de imersão e concentração, das três espécies florestais estudadas.....23
- Tabela 3. Dados médios (%) de sementes viáveis (soma das classes 1 e 2) e não viáveis (classe 3) pelo teste de tetrazólio (TZ) de *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin Barneby para as duas concentrações de sal de tetrazólio.....24
- Tabela 4. Dados médios (%) de sementes viáveis (soma das classes 1 e 2) e não viáveis (classe 3) pelo teste de tetrazólio (TZ) de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos para as três concentrações de sal de tetrazólio.....25
- Tabela 5. Dados médios (%) de sementes viáveis (soma das classes 1 e 2) e não viáveis (classe 3) pelo teste de tetrazólio (TZ) de *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton Rose. para as três concentrações de sal de tetrazólio.....26
- Tabela 6. Resultados médios do teste de tetrazólio (TZ), germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), emergência de plântulas (EP) e plântulas normais (PN).....27
- Tabela 7. Resultados dos testes de germinação, Índice de Velocidade (IVG), Tempo Médio de Germinação (TMG) e das três concentrações de tetrazólio para as três espécies florestais estudadas.....29

## **SUMÁRIO**

1.	INTRODUÇÃO .....	13
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
2.1	Espécies estudadas .....	15
2.2	Qualidade, germinação e vigor de sementes .....	15
2.3	Teste de Tetrazólio.....	18
3.	MATERIAL E MÉTODOS .....	19
4.	RESULTADOS.....	23
5.	DISCUSSÃO .....	30
6.	CONCLUSÕES .....	33
7.	REFERÊNCIAS.....	33

## 1. INTRODUÇÃO

O século XXI se inicia como a década da restauração lançada mundialmente pela Organização das Nações Unidas (ONU). No período entre 2021 e 2030, pretende-se a restauração de 500 milhões de hectares<sup>1</sup>, dos quais o Brasil se comprometeu a restaurar 12 milhões de hectares em acordos internacionais assinados<sup>2</sup>. Contudo, a produção brasileira não é capaz de atender esta demanda<sup>3</sup> e será preciso ampliar a capacidade instalada das redes de sementes em pelo menos 350 vezes<sup>4</sup>. Neste contexto, as sementes de espécies florestais tornaram-se insumos chave para a recuperação de áreas degradadas<sup>5</sup>. Para tanto é necessário o máximo aproveitamento das sementes produzidas, associada à utilização de espécies adequadas ao habitat a ser restaurado, bem como o uso de sementes de boa qualidade fisiológica<sup>6</sup>.

Dentre as técnicas de restauração, a semeadura direta ampliou sua utilização em várias regiões do Brasil e do mundo<sup>7,8</sup> por apresentar boa relação custo-benefício. Contudo, emprega alta densidade de sementes, de até 300.000 sementes/ha<sup>9</sup>, mas com baixo aproveitamento, com taxas entre 5 a 10% de emergência em campo<sup>10</sup> em função de baixa qualidade das sementes e condições na pós-emergência<sup>11</sup>. Em geral, a emergência em campo tende a ser inferior à obtida em laboratório onde são oferecidas condições ideais para a sua germinação. Por isto, o vigor das sementes pode ser um melhor indicador da qualidade das sementes usadas para a semeadura direta<sup>12</sup>.

A colheita de sementes de espécies florestais nativas para a produção de mudas e plantio é limitada pelo tempo entre a sua obtenção em campo, semeadura e plantio<sup>12</sup>. Na semeadura direta, muitas das espécies empregadas produzem sementes no mesmo período em que se efetua o semeio em campo<sup>13</sup>. Isto compromete a avaliação da qualidade das sementes para o ajuste da sua quantidade visando reduzir o desperdício de sementes. Além disso, o Decreto 10.586 de 18 de dezembro de 2020<sup>14</sup>, especificado pela Instrução Normativa nº 42 de 17 de setembro de 2019<sup>15</sup>, estabeleceram a necessidade da realização de análise da qualidade de sementes em laboratórios credenciados e com métodos padronizados. Isto gera custos pela necessidade de armazenar as sementes até a finalização dos testes e obtenção do laudo, podendo afetar sua qualidade, principalmente as espécies de curta longevidade natural, além de perder-se o tempo adequado para a semeadura<sup>16</sup>. Desta forma, o emprego de testes rápidos como o de tetrazólio<sup>17,18</sup> são

ferramentas imprescindíveis para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes e, por isso, tem merecido a atenção dos tecnologistas, produtores e pesquisadores<sup>19</sup>.

De acordo com as Regras para Análise de Sementes<sup>20</sup>, o principal objetivo do teste de tetrazólio é a distinção das sementes viáveis das não viáveis. Esse teste reflete a atividade das enzimas desidrogenases envolvidas no processo de respiração<sup>21</sup>. Assim, os tecidos vivos e mortos das sementes são identificados pela presença ou ausência da coloração vermelha, respectivamente<sup>22</sup>. Nos tecidos vivos que apresentam atividades respiratória e metabólica normais, as enzimas do grupo das desidrogenases liberam íons hidrogênio ( $H^+$ ) com os quais o sal reage formando um composto insolúvel e estável, de coloração vermelha, denominado trifenilformazan<sup>23</sup>. Por ser rápido e simples, esse teste é uma alternativa viável para fornecer informações aos agricultores e viveiristas, embora seja necessário o treinamento dos analistas para aplicar critérios baseados na coloração dos tecidos e no conhecimento sobre as estruturas das sementes<sup>24</sup>.

As concentrações mais utilizadas do sal de tetrazólio são 0,075; 0,1; 0,2; 0,5 e 1,0%. Entretanto, as concentrações baixas são mais indicadas por apresentarem menor custo com o sal e possibilitarem a visualização dos distúrbios de coloração e identificação de diferentes tipos de injúrias<sup>23</sup>. Em cada concentração, a intensidade da coloração dos tecidos possibilita determinar o grau de viabilidade da semente, sendo inclusive uma das vantagens em relação ao teste de germinação, pois permite identificar o tecido viável e aqueles com sinais de deterioração<sup>25</sup>. O resultado permite classificar diferentes níveis de viabilidade e vigor, fornecendo informações mais precisas para a semeadura direta e, inclusive, o diagnóstico sobre as possíveis causas da diminuição da qualidade das sementes<sup>22</sup>.

O potencial de uso do teste de tetrazólio para avaliação rápida de lotes de sementes de espécies florestais nativas, evidencia a necessidade de protocolos para a sua aplicação em espécies florestais. Neste trabalho buscou-se analisar a eficiência do teste de tetrazólio como técnica para fornecer uma rápida e segura informação sobre a qualidade das sementes.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Espécies estudadas

*Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos, popularmente conhecido como ipê-amarelo ou ipê-amarelo paulista, é uma espécie arbórea pertencente à família Bignoniaceae, com ocorrência nos estados brasileiros do Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Bahia, Paraíba e Pernambuco, em vegetações de Cerrado (lato sensu), Floresta Ombrófila Densa, Floresta Estacional Semidecídua, Restinga, e Vegetação Sobre Afloramentos Rochosos.<sup>26</sup> *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin Barneby, conhecida como fedegoso ou aleluia, é uma espécie pioneira pertencente à família Fabaceae, que ocorre nas regiões norte, nordeste, centro-oeste, sul e sudeste do Brasil em áreas de Cerrado e Mata Atlântica.<sup>27</sup> *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton Rose, popularmente conhecida como monjoleiro, monjolo ou angico branco, também é uma espécie pertencente à família Fabaceae, pioneira, de ocorrência nos biomas Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal. Alcança até 15 metros de altura, de copa frondosa, tendo como principais usos celulose, lenha, carvão e madeireiro, mas também é utilizada como produto ornamental, medicinal e apícola<sup>28</sup>, além de ser muito indicada para a recuperação e manutenção de áreas degradadas, arborização urbana e silvicultura<sup>29</sup>.

### 2.2 Qualidade, germinação e vigor de sementes

As sementes de espécies florestais nativas possuem, de modo geral, baixas porcentagens de germinação, devido à sua complexidade pela diversidade de formas, tamanhos e estruturas, além de fatores como maturação desuniforme, problemas de má formação, predação por insetos, ataques de fungos, dependência de um ecossistema equilibrado para a polinização e dispersão, superação de dormência, intolerância à secagem, cuidados com o armazenamento e longos períodos de germinação<sup>30</sup>. Por isso, com o objetivo de obter o máximo aproveitamento das sementes, a preocupação com a qualidade é fundamental para selecionar lotes de alto potencial, atendendo os padrões exigidos pela legislação para a comercialização e também possibilitando um bom retorno para fornecedores e compradores, sendo essencial para o sucesso de programas de restauração florestal, tanto para as técnicas de semeadura direta quanto para a produção de mudas<sup>31</sup>.

A qualidade de sementes refere-se a determinação de seus atributos conforme a interação de um conjunto de características, sendo as principais: física, sanitária, genética e fisiológica<sup>32</sup>. A qualidade física engloba alguns componentes como: pureza física, que reflete a composição percentual mecânica da amostra, tanto do peso quanto da identidade de seus componentes, possibilitando avaliar o grau de contaminação do lote por espécies indesejadas e restos vegetais ou fragmentos de sementes<sup>33</sup>; grau de umidade, que expressa a porcentagem de água contida na semente, sendo um fator determinante para a coleta, beneficiamento e armazenamento adequados; danos mecânicos, tamanho e peso, aspectos que podem afetar o vigor e a germinação pela ocorrência de sementes mal formadas, semivazias ou que sofreram danos mecânicos muito profundos, indicando problemas na colheita e beneficiamento das sementes<sup>30</sup>.

A qualidade sanitária refere-se à presença ou ausência de patógenos e pragas, tais como bactérias, vírus, nematóides e principalmente fungos, que podem servir de inóculo inicial para o desenvolvimento da doença no campo, ocasionando a redução da capacidade germinativa, do vigor e da emergência<sup>30</sup>. Os fungos podem se estabelecer em dois momentos, no campo, durante o período de crescimento e maturação, e no armazenamento, tendo como principais representantes os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, causando a deterioração das sementes<sup>34</sup>.

Com relação a qualidade genética são considerados, dentre outros atributos, a tolerância e resistência a condições adversas de solo e clima, bem como a pragas e doenças, crescimento rápido, vigor, potencial de produtividade e, principalmente, pureza varietal e contaminação genética, que estão relacionadas à mistura física e genética de variedades, interferindo no objetivo de reproduzir características que foram previamente selecionadas<sup>30</sup>.

E por fim, a qualidade fisiológica que é determinada pela capacidade das sementes em desempenhar funções vitais, tanto em condições ambientais favoráveis quanto desfavoráveis, tendo como fatores que influenciam seu potencial a germinação, vigor e longevidade<sup>35</sup>. O declínio na taxa e velocidade de germinação, desuniformidade de emergência, menor tamanho de plântulas e área foliar, aumento na incidência de mudas anormais, dentre outras características, podem ser resultado da baixa qualidade fisiológica das sementes<sup>36</sup>.

Quanto ao fator germinação, pode ser caracterizado como a retomada do desenvolvimento do eixo embrionário, porém existem diferentes conceitos de acordo com o foco. Por exemplo, o conceito botânico ou morfológico define a germinação como um processo que se inicia com a hidratação das sementes, ativando a expressão de enzimas ligadas à mobilização de reservas e finaliza com a protrusão radicular<sup>33</sup>. O conceito tecnológico ou agrônomo considera a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, tais como radícula, hipocótilo, cotilédones, epicótilo e plúmula. Estando completas, proporcionais e sadias, ou com pequenos defeitos que não interfiram na sua aptidão são consideradas aptas a produzir plântula normal. O desenvolvimento da plântula pode ser indicativo de potencial fisiológico inferior, conforme os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes<sup>20</sup>.

Embora o teste de germinação seja usado para estimar e comparar a qualidade fisiológica de lotes de sementes e avaliar o potencial de estabelecimento de plantas, no entanto por ser conduzido em laboratório fornece condições ambientais ótimas, como luz, temperatura e umidade constantes, diferente do que se encontra em algumas situações de campo<sup>30</sup>. Em condições não controladas há emergência de plântulas inferiores, tendo em vista que o potencial fisiológico das sementes responde diretamente à influência do ambiente. Além disso, também não é possível detectar diferentes graus de deterioração das sementes, bem como diferenciar lotes com poder germinativo semelhante quanto ao seu potencial de armazenamento<sup>37</sup>.

O vigor pode ser definido como a soma de todas as propriedades da semente, ou do lote de sementes, as quais determinam o seu nível de atividade e desempenho durante a germinação e a emergência de plântulas<sup>38</sup>. O termo “vigor” foi introduzido por Friedrich Nobbe em 1876, no tratado “Handbuch der Samenkunde” em que, ao descrever a morfologia e anatomia das sementes, e o processo de germinação, utilizou a palavra “triebkraft” com significado de “força motriz” ou “energia de crescimento”. Porém, em 1911 a ideia atual de vigor foi atribuída a Hiltner e Ihssen, ao desenvolverem o teste do “tijolo moído”<sup>39</sup>.

Durante a realização do IX Congresso da International Seed Testing Association - ISTA, no ano de 1950, após as proposições do pesquisador holandês W. J. Franck, sobre denominar os testes conduzidos com substratos artificiais e em condições ótimas como “testes de germinação”, enquanto os testes relacionados à emergência de plântulas em



solo seriam chamados “testes de vigor”, foi estabelecido o primeiro Comitê de Vigor da ISTA, com o objetivo de definir e desenvolver metodologias padronizadas para a avaliação do vigor, buscando reproduzir situações de desempenho em campo, semeadura e durante o armazenamento<sup>37</sup>.

Nesse contexto, o fomento de pesquisas sobre a relação do vigor e os aspectos de desempenho das sementes, quanto a emergência de plântulas e predição de potencial germinativo durante o armazenamento, gerou uma supervalorização do termo “vigor”, tornando-se a principal justificativa para o sucesso ou fracasso do estabelecimento em campo<sup>37</sup>. No final dos anos 70 foi estabelecido pela ISTA o conceito de que o vigor compreende um conjunto de características que determinam o nível de atividade e o desempenho da semente durante a germinação e a emergência de plântulas normais, de forma rápida e uniforme, sob uma ampla faixa de condições ambientais<sup>38</sup>.

### 2.3 Teste de Tetrazólio

No início da década de 1920 foram feitos diversos estudos para estimar a viabilidade das sementes por meio de metodologias que utilizavam corantes, tais como índigo carmim, ácido sulfúrico, azul de metileno, vermelho neutro e verde malaquita, para avaliar a atividade de algumas enzimas, como peroxidase, catalase, oxidase, redutase e fenolase. Os primeiros estudos bem-sucedidos foram relatados por Turina em 1922, com a redução de telúrio e sais de selênio, e Neljubow em 1925, com índigo carmim. Posteriormente, a aplicação de sais de telúrio na coloração de embriões de sementes foi aprimorada por Hasegawa, Eidmann e Schmidt<sup>40</sup>.

Após desenvolver o método do selênio topográfico, Georg Lakon tomou conhecimento de suas propriedades tóxicas e passou a testar outros sais, tendo Kühn e Jerchel chamado atenção para os compostos de tetrazólio, concluindo que o cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio era o mais apropriado e classificando as sementes. E com relação a classificação das sementes, Lakon utilizou como critérios, para categorizar as sementes de alto e baixo vigor, a textura do tecido, localização, extensão e aparência da coloração. Utilizando e aprimorando os mesmos princípios, Moore e Smith definiram três classes para as sementes, sendo “A” como vigorosas, “B” viáveis, mas não vigorosas e “C” não viáveis<sup>40</sup>.

De acordo com as Regras para Análise de Sementes, o teste de tetrazólio tem por objetivo determinar a viabilidade das sementes que necessitam ser semeadas logo após a colheita, que possuem dormência ou que apresentaram problemas no teste de germinação<sup>20</sup>. Trata-se de teste bioquímico no qual as sementes são embebidas na solução incolor de 2, 3, 5 trifenil cloreto ou brometo de tetrazólio, utilizada como um indicador para revelar o processo de redução que acontece dentro das células vivas<sup>41</sup>. As enzimas desidrogenases catalisam reações respiratórias nas mitocôndrias durante a glicólise e o ciclo de Krebs, durante esse processo ocorre a liberação de íons de hidrogênio, com os quais o 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio reage dando origem à um composto chamado trifenilformazan, uma substância estável e não difusível que marca os tecidos vivos com a coloração vermelha, diferenciando-os dos tecidos mortos que não são corados, pois não houve reação, significando que não há viabilidade celular e do tecido<sup>37</sup>.

A concentração da solução, temperatura, tempos de exposição dos tecidos e procedimentos de pré-condicionamento, para adequada absorção do sal de tetrazólio e coloração uniforme, variam de acordo com as espécies<sup>42</sup>. E quanto às suas vantagens, o teste fornece rapidamente informações sobre a identificação de diferentes níveis de viabilidade e vigor, com foco nas condições físicas e fisiológicas do embrião de cada semente, não sendo afetado por diversas condições que influenciam no teste padrão de germinação. Porém, requer conhecimentos sobre a estrutura das sementes e treinamento para a sua interpretação, a fim de minimizar sua subjetividade, além da necessidade em definir protocolos, principalmente para sementes florestais, que possuem diversas complexidades, tendo em vista que esse tipo de teste é bastante empregado no controle de qualidade interno de empresas que trabalham com grandes culturas, e ainda pouco utilizados para espécies florestais nativas<sup>37</sup>.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

**Seleção de espécies:** As três espécies-modelo de Fabaceae e Bignoniaceae foram selecionadas em função de sua utilização na restauração de áreas degradadas via semeadura direta<sup>8,13</sup> e pelos critérios de curta longevidade- *Handroanthus chrysotricha* (Mart. ex DC.) Mattos - e presença de dormência física - *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin Barneby e *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton Rose.

**Caracterização inicial dos lotes de sementes:** Os lotes das sementes foram caracterizados quanto ao peso de mil sementes, número de sementes/Kg, e teor de água, conforme as Regras para Análise de Sementes<sup>20</sup>. A viabilidade inicial foi estimada pelo teste de germinação com quatro repetições de 25 sementes cada sobre duas folhas de papel filtro umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes o volume de água, em relação à massa do papel seco, em B.O.D (Biochemical Oxygen Demand) à temperatura de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas. Considerou-se germinada as sementes com protrusão de raiz primária maior ou igual a 2 mm.

**Vigor de sementes:** O vigor foi estimado pelo Índice de velocidade de germinação (IVG), Tempo Médio de Germinação (TMG) e pelo teste de emergência de plântulas. O IVG foi aplicado aos dados do teste de germinação e calculado pela equação<sup>43</sup>:

$$IVG = \frac{G1}{T1} + \frac{G2}{T2} + \dots + \frac{Gi}{Ti}$$

Onde: IVG é o índice de velocidade de germinação; G1 até Gi é o número de plântulas germinadas ocorrida a cada dia; T1 até Ti é o tempo (dias). E o TMG foi calculado pela seguinte equação:

$$TMG = \frac{(\sum_i^j ni ti)}{\sum_i^j ni}$$

Sendo TMG o tempo médio de germinação, a ser expresso em dias; onde  $ni$  o número de sementes germinadas no tempo  $i$  e  $ti$  o tempo de incubação, no tempo  $i$  no intervalo de  $i$  a  $j$  dias de análise<sup>44</sup>.

**Teste de emergência de plântulas:** Conduzido em laboratório à temperatura ambiente média de 25,6±1,9°C e umidade relativa de 60%, semeadas em recipientes com vermiculita. As contagens foram efetuadas aos 15 dias após a semeadura, determinando-se a porcentagem de plântulas emergidas e avaliando plântulas normais e anormais. Como normais foram classificadas as plântulas com todas as suas estruturas essenciais bem desenvolvidas, completas, proporcionais e saudáveis, ou com pequenos defeitos que não interferissem no seu desenvolvimento. Já as anormais não mostram potencial para continuar seu desenvolvimento, com quaisquer de suas estruturas essenciais danificadas, ausentes, deformadas ou deterioradas<sup>20</sup>.

**Teste de tetrazólio:** Para facilitar a penetração do sal, foi realizado o pré-tratamento das sementes com o corte lateral no tegumento, com exceção apenas de *H. chrysotricha* sem pré-tratamentos. Após a preparação, as sementes foram submersas em solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio (pH 6,5 a 7,0) nas concentrações de 0,075, 0,50 e 1%, em câmara regulada a 40°C, no escuro, sendo realizados pré-testes para definir os tempos de imersão mais adequados para obter-se uma coloração uniforme. As sementes que não coloriram suficientemente foram recolocadas na solução por um período adicional, e para as que obtiveram coloração muito intensa, impossibilitando a leitura, o teste foi realizado novamente por períodos curtos.

A partir dos resultados do pré-teste, para as sementes de *S. macranthera*, nas concentrações de 0,075% e 0,5% foi utilizado o tempo de imersão de 24 horas e, para 1%, foi utilizado o tempo de 20 horas. No caso das sementes de *H. chrysotricha*, na concentração de 0,075% foi utilizada imersão de 12 horas e para as concentrações de 0,5 e 1% foi utilizado 6 horas. Para as sementes de *S. polyphylla* na concentração de 0,075% foi utilizado imersão de 24 horas, já para as concentrações de 0,5 e 1% também foi utilizado 6 horas (Tabela 1). Nos ensaios foram empregadas quatro repetições de 25 sementes para cada combinação de concentração e tempo de imersão em tetrazólio. Ao término de cada período de imersão, a solução de tetrazólio foi descartada e as sementes, após serem lavadas em água corrente, foram submersas em água à temperatura ambiente e mantidas no escuro em câmara a 5°C até o momento da avaliação. A viabilidade das sementes foi analisada individualmente.

Tabela 1. Descrição dos pré-tratamentos, concentrações e tempo de imersão adotados para o pré-condicionamento das três espécies florestais estudadas para aplicação do teste de tetrazólio.

Espécie	Pré-tratamento	Concentração (%)	Tempo de imersão (h)
<i>Senna macranthera</i> (DC. ex Collad.) H.S. Irwin Barneby	Corte na lateral no tegumento	0,075	24
		0,5	
		1	20
<i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	Nenhum	0,075	12
		0,5	6
		1	
<i>Senegalia polyphylla</i> (DC.) Britton Rose.	Corte na lateral no tegumento	0,075	24
		0,5	6
		1	

Para a avaliação das classes de coloração, caracterização da localização e extensão de danos e das condições das estruturas embrionárias foram utilizados os padrões propostos por MASULLO et al. (2011)<sup>12</sup>. Cada semente foi examinada individualmente sob lupa estereoscópica (2x a 4x) definindo-se inicialmente, quatro áreas da sua morfologia, sendo elas: (a) *zona 1*- áreas próximas ao eixo embrionário, consideradas as mais importantes para o desenvolvimento do embrião, por sua proximidade à estrutura do eixo-hipocótilo-radícula; (b) *zona 2*- áreas medianas da semente, consideradas importantes na translocação de substâncias para o eixo embrionário; (c) *zona 3*- áreas distantes do eixo embrionário e (d) o próprio eixo embrionário. A seguir, cada semente foi avaliada considerando os seguintes parâmetros: (a) coloração dos tecidos, (b) posição das manchas, (c) extensão e tamanho das manchas e (d) aspecto dos tecidos.

Pela análise desses parâmetros foram assinaladas as características de cada semente e enquadradas nas três classes de viabilidade também definidas por MASULLO et al. (2011)<sup>12</sup> sendo: *Classe 1*- tecidos com coloração vermelho brilhante, uniforme considerado como típico de sadios, ausência de manchas brancas ou vermelho intensa nas áreas críticas (eixo embrionário) ou presença de manchas inferior a 20% do tamanho das sementes, aspecto dos tecidos firmes, sem exsudados, classificadas como “sementes viáveis”, com potencial de germinação; *Classe 2*- tecidos com coloração vermelho intenso, presença de manchas localizadas nas áreas medianas das sementes e nos cotilédones (zonas 2 e 3) ou próximas ao eixo hipocótilo-radícula (zona 1), ocupando de 20 a 40% do tamanho das sementes, tecidos com aspecto firme e sem exsudados, também classificando as sementes como “viáveis” pois apesar de possuir essas características que afetam seu vigor, sendo mais baixo em comparação às sementes de classe 1, mantém seu potencial germinativo e não interferem no desenvolvimento da plântula. *Classe 3* – tecidos com coloração amarelada ou branca, presença de manchas localizadas próximas ou no próprio eixo embrionário, ocupando uma área superior a 40% do tamanho das sementes, e tecidos com aspecto leitoso, presença de exsudados e sinais de deterioração, classificando as sementes como não viáveis pois não possuem potencial germinativo. Para calcular o percentual de “sementes viáveis” por tratamento é realizado o somatório do número de sementes nas classes 1 e 2 e sua percentagem total<sup>12</sup>.

**Análise estatística:** O delineamento experimental foi o fatorial inteiramente casualizado. Os resultados obtidos nos testes de vigor e de germinação foram submetidos ao teste F, após a transformação logarítmica dos dados visto que não apresentavam normalidade, sendo posteriormente submetidos ao teste Shapiro-Wilk<sup>43</sup>, utilizando o programa R-Studio<sup>45</sup>. Para verificar a relação entre a qualidade das sementes obtida por meio do teste de germinação e os testes de vigor, foi realizada a análise de regressão polinomial, da germinação com o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), com o Tempo Médio de Germinação (TMG) e com as três diferentes concentrações de tetrazólio.

#### 4. RESULTADOS

Para as sementes de *Senna macranthera* a concentração de 0,075% não permitiu a coloração das sementes para viabilizar a sua classificação (Tabela 2). Para 0,5 e 1%, os tempos de exposição de 24 e 20 horas, respectivamente, permitiram a melhor visualização das sementes viáveis e inviáveis, facilitando a categorização das sementes nas classes de viabilidade (Figura 1; Tabela 3).

Tabela 2. Dados percentuais de sementes coloridas pelo teste de tetrazólio, por tempo de imersão e concentração, das três espécies florestais estudadas.

Espécie	Concentração (%)	Tempo de imersão (h)	% de sementes coloridas
<i>Senna macranthera</i> (DC. ex Collad.) H.S. Irwin Barneby	0,075		0
	0,5	24	51
	1	20	53
<i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	0,075	12	42
	0,5	6	50
	1		52
<i>Senegalia polyphylla</i> (DC.) Britton Rose.	0,075	24	64
	0,5	6	83
	1		80

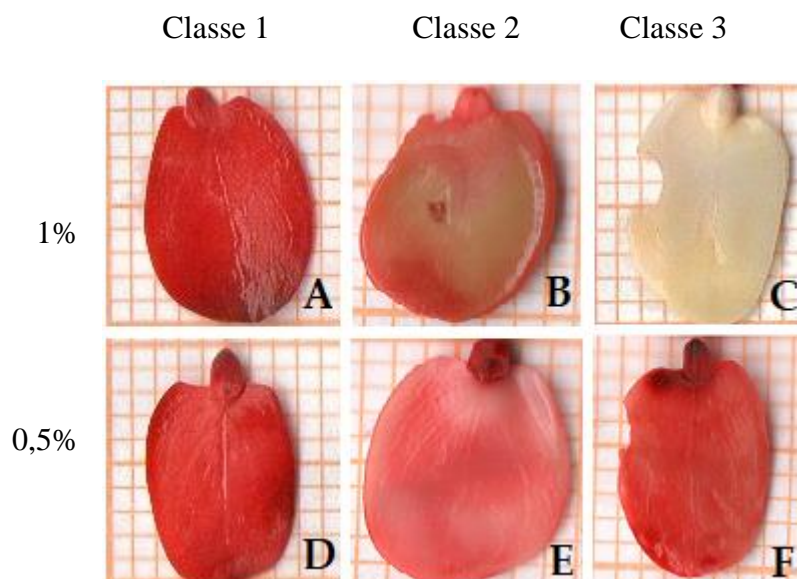


Figura 1. Coloração de sementes de *Senna macranthera* submetidas ao teste de tetrazólio nas concentrações de 1 e 0,5% por 20 e 24h de imersão, respectivamente, à temperatura de 40°C. A e D. Classe 1, viáveis com tecidos firmes e ausência de manchas; B e E. Classe 2, viáveis com presença de manchas esbranquiçadas; C e F. Classe 3, inviáveis com 100% dos tecidos mortos e manchas com coloração vermelho intenso na região da radícula, respectivamente.

Tabela 3. Dados médios (%) de sementes viáveis (soma das classes 1 e 2) e não viáveis (classe 3) pelo teste de tetrazólio (TZ) de *Senna macranthera* para as duas concentrações de sal de tetrazólio.

Concentração (%)		TZ (%)		
		1	0.5	75
Viável	Classe 1	4	14	0
	Classe 2	49	37	0
<b>Total viável</b>		53	51	0
Inviável	Classe 3	47	49	0
<b>Total</b>		100	100	0

No caso das sementes de *Handroanthus chrysotrichus* a concentração de 0,075% apresentou pouca variação no número de sementes viáveis em comparação às concentrações de 1 e 0,5% (Figura 2; Tabela 4), embora seja necessário um tempo de imersão maior na solução de tetrazólio.

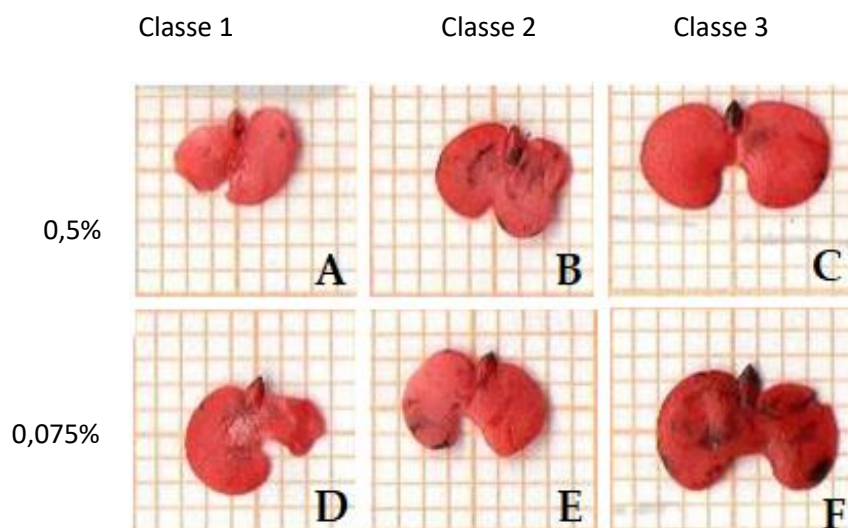


Figura 2. Coloração de sementes de *Handroanthus chrysotrichus* submetidas ao teste de tetrazólio nas concentrações de 1 e 0,5% por 6h de imersão à temperatura de 40°C. A e D. Classe 1, viáveis com tecidos firmes e ausência de manchas; B e E. Classe 2, viáveis com presença de manchas com coloração vermelho intenso; C e F. Classe 3, inviáveis com manchas de coloração vermelho intenso na região da radícula.

Tabela 4. Dados médios (%) de sementes viáveis (soma das classes 1 e 2) e não viáveis (classe 3) pelo teste de tetrazólio (TZ) de *Handroanthus chrysotrichus* para as três concentrações de sal de tetrazólio.

Concentração (%)		TZ (%)		
		1	0.5	75
Viável	Classe 1	8	8	2
	Classe 2	44	42	40
<b>Total viável</b>		52	50	42
Inviável	Classe 3	48	50	58
<b>Total</b>		100	100	100

Para as sementes de *Senegalia polyphylla* a concentração de 0,075% obteve uma coloração fraca, dificultando a visualização de sementes viáveis e também indicando a necessidade de um tempo de imersão superior a 24h. As concentrações de 1 e 0,5% foram adequadas e obtiveram valores próximos de sementes viáveis (Figura 3; Tabela 5).



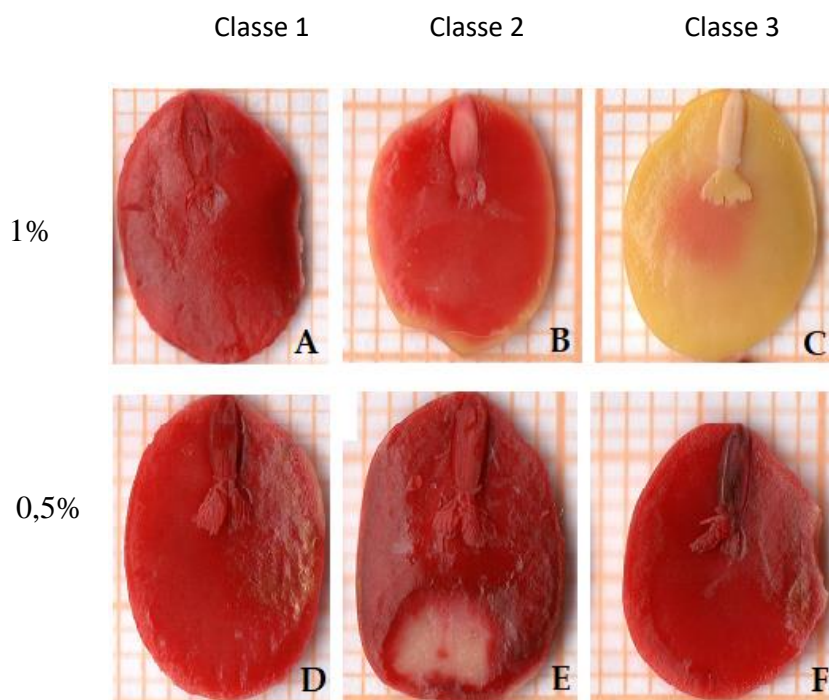


Figura 3. Coloração de sementes de *Senegalia polyphylla* submetidas ao teste de tetrazólio nas concentrações de 1 e 0,5% por 6h de imersão à temperatura de 40°C. A e D. Classe 1, viáveis com tecidos firmes e ausência de manchas; B e E. Classe 2, viáveis com presença de manchas esbranquiçadas; C e F. Classe 3, inviáveis com quase 100% dos tecidos mortos e manchas com coloração vermelho intenso na região da radícula, respectivamente.

Tabela 5. Dados médios (%) de sementes viáveis (soma das classes 1 e 2) e não viáveis (classe 3) pelo teste de tetrazólio (TZ) de *Senegalia polyphylla* para as três concentrações de sal de tetrazólio.

Concentração (%)		TZ (%)		
		1	0.5	75
Viável	Classe 1	45	35	16
	Classe 2	35	48	48
<b>Total viável</b>		80	83	64
Inviável	Classe 3	20	17	36
<b>Total</b>		100	100	100

Observa-se que para as sementes de *Handroanthus chrysotrichus* o percentual de sementes germinadas, pelo critério de emissão de radícula (2 mm), bem como o seu IVG, foi superior comparado com os resultados de emergência de plântulas e plântulas normais (Tabela 6).

Tabela 6. Resultados médios do teste de tetrazólio (TZ), germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), emergência de plântulas (EP) e plântulas normais (PN).

Espécie	TZ (%)	G (%)	IVG	TMG (dias)	EP (%)	PN (%)
<i>Senna macranthera</i> (DC. ex Collad.) H.S. Irwin Barneby	52	57	2.096	10	54	40
<i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	48	82	4.946	4	40	25
<i>Senegalia polyphylla</i> (DC.) Britton Rose.	75,6	93	7.750	3	89	80

As plântulas anormais observadas apresentaram sinais de deterioração e desproporcionalidade de estruturas essenciais (Figuras 4 e 5) e sistema radicular retorcido (Figura 6), portanto, não apresentaram potencial para continuar seu desenvolvimento.



Figura 4. Plântulas de *Senna macranthera* normal (A) e anormal (B) deterioração da radícula e desenvolvimento desproporcional.



Figura 5. Plântulas de *Handroanthus chrysotrichus* normal (A) e anormal (B) Sistema radicular atrofiado e em deterioração.



Figura 6. Plântulas de *Senegalia polyphylla* normal (A) e anormal (B) Sistema radicular retorcido

Para as sementes de *S. macranthera* o teste F indicou que não houve diferença estatística entre os testes vigor e de tetrazólio nas concentrações 1% ( $F = 3.5861$ ,  $p = 0,3221$ ) e 0,5% ( $F = 2.6032$ ,  $p = 0.4528$ ) com o teste de germinação. Já para as sementes de *S. polyphylla* os valores de Tempo Médio de Germinação (TMG) e da concentração 0,075% foram diferentes estatisticamente da germinação (ambos com valores de F e p

menores que 0,05). E para as sementes de *H. chrysotrichus* também houve diferença estatística entre o TMG e o teste de germinação bem como o tetrazólio na concentração de 1% ( $F = 0.031522$  e  $p = 0.01797$ ).

Tabela 7. Resultados dos testes de germinação, Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Tempo Médio de Germinação (TMG) e das três concentrações de tetrazólio para as três espécies florestais estudadas.

Espécie	G%	IVG Médio	TMG Médio	TZ 1%	TZ 0,5 %	TZ 0,075 %
<i>Senna macranthera</i> (DC. ex Collad.) H.S. Irwin Barneby	57a	2,1a	9,8a	53a	51a	-
<i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	82a	4,9a	4,0b	52b	50a	42a
<i>Senegalia polyphylla</i> (DC.) Britton Rose.	93a	7,8a	3,0b	79a	83a	64b

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na linha não diferem estatisticamente pelo Teste F, a 5% de probabilidade para cada espécie.

Pela análise de regressão polinomial (Figura 7), considerando as três espécies estudadas, o teste de tetrazólio e germinação obteve os seguintes coeficientes de determinação:  $r^2 = 0,6149$ ;  $0,6173$  e  $0,6859$  para as concentrações 0,075; 0,5 e 1%, respectivamente. Para o teste de tetrazólio e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) na concentração de 1% foi obtido  $r^2 = 0,6078$  e para as concentrações de 0,5 e 0,075%  $r^2 = 0,7076$  e  $0,8864$ , respectivamente. Já para o teste de tetrazólio e o Tempo Médio de Germinação (TMG) para as concentrações de 1 e 0,5% foram obtidos os coeficientes:  $r^2 = 0,36$  e  $0,3036$  e na concentração de 0,075%  $r^2 = 0,9342$ .

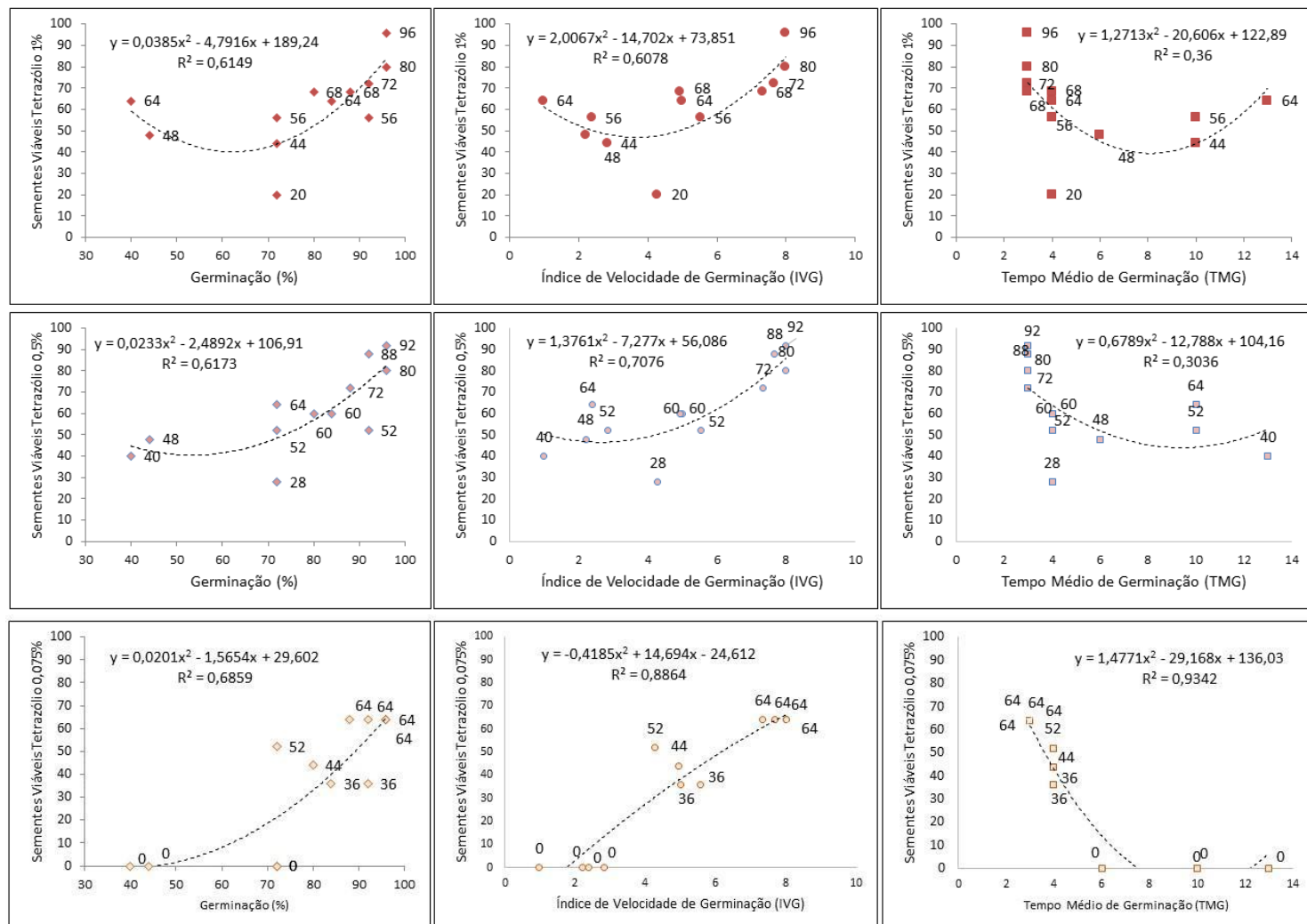


Figura 7. Regressão polinomial entre os resultados do teste de tetrazólio, nas três concentrações (0,075; 0,5 e 1%) e os resultados de germinação, índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG), para as três espécies estudadas.

## 5. DISCUSSÃO

Várias concentrações da solução de tetrazólio podem ser utilizadas no teste, sendo que, para sementes florestais, elas variam de 0,05 a 1% dependendo da espécie, do método de preparo e da permeabilidade do tegumento<sup>38</sup>. Considerando que reduzir o tempo de análise é importante para fornecer informações para a semeadura direta<sup>12</sup>, no caso do presente trabalho, recomenda-se a adoção da concentração de 1% por 20 horas para as sementes de *Senna macranthera* ou, em caso do tempo não ser limitante, utilizar a concentração de 0,5% por 24 horas, uma vez que ambas foram eficientes para permitir a classificação das sementes como viáveis e inviáveis e não apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação ao teste de germinação. No caso das sementes



de *Senegalia polyphylla*, apesar de ser da mesma família e as concentrações de 1 e 0,5% também terem sido eficientes na coloração dos tecidos, condizentes com a germinação, esta apresentou um comportamento distinto em relação à penetração do sal de tetrazólio, com um menor tempo de imersão na solução de tetrazólio (6 horas), o que parece indicar maior permeabilidade ao sal de tetrazólio do que a *Senna macranthera*. Portanto, recomenda-se a concentração de 0,5% por uma questão de custo, pois utiliza uma menor quantidade de sal de tetrazólio.

Em estudos realizados com outras espécies de Fabaceae, como *Gleditsia amorphoides* (Griseb.) Taub também foi utilizado como pré-condicionamento a escarificação mecânica das sementes, porém foram embebidas em água por 48 horas, com posterior retirada do tegumento, expondo o embrião à solução de tetrazólio de concentração 0,075%, por 3 horas, a 35 °C<sup>18</sup>. Para sementes de *Poecilanthe parviflora* Benth a mesma concentração também foi adequada, mas a 40°C durante 90 minutos, utilizando como pré-tratamento a imersão das sementes em água, até atingirem 40% de água, e posterior remoção do tegumento<sup>46</sup>. E para sementes de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake foi empregado o pré-condicionamento de imersão em água destilada por 48 horas, seguida da remoção do tegumento e endosperma, expondo o embrião à solução de tetrazólio com concentração de 0,05% por 5 horas a 30 °C<sup>47</sup>.

Com relação ao método de pré-condicionamento empregado para essas duas espécies, sendo o corte na lateral da semente, ou na região oposta ao eixo radicular, mostrou-se uma opção adequada para a rápida e uniforme penetração da solução de tetrazólio, uma vez que nos pré-testes efetuados as sementes não escarificadas não chegaram a embeber ou levaram muito tempo nesse processo, tornando inviável a realização do teste, no entanto, esse método é passível de danos às sementes que podem interferir na sua leitura e interpretação, tendo em vista que a região do corte apresenta manchas esbranquiçadas ou com coloração vermelho intenso, consequentes do dano causado, ou mesmo por acabar atingindo regiões importantes, como o eixo hipocótilo-radícula, e grande parte dos tecidos de reserva, impossibilitando a leitura do embrião ou resultando em uma interpretação errada. Outros autores também observaram tais danos em sementes de *Albizia hasslerii* (Chodat) Burr, e apesar do pré-tratamento com escarificação ter apresentado bons resultados, as análises podem variar de acordo com a intensidade da escarificação<sup>48</sup>.

Já para o *Handroanthus chrysotrichus* resultados satisfatórios foram obtidos com a imersão direta das sementes na solução de tetrazólio, sendo um procedimento mais rápido, e as três concentrações apresentaram uma coloração uniforme, possibilitando a distinção entre as sementes quanto à sua viabilidade, porém, os resultados do teste estatístico demonstraram que houve diferença significativa entre o teste de germinação e a concentração de 1%, nesse caso, recomenda-se a utilização da concentração de 0,5% por 6 horas ou, mais uma vez caso o tempo não seja um fator limitante, a concentração de 0,075% por 12 horas.

Em outros trabalhos publicados, para sementes de *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith, submetidas ao armazenamento, foi empregado o pré-condicionadas de imersão em água por 12 h, a 25 °C e posterior remoção das alas, expondo os embriões ao sal de tetrazólio na concentração de 0,05% a 36 °C por 24 horas<sup>49</sup>. Resultados parecidos foram obtidos para *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich e *T. impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl, com o pré-tratamento de embebição das sementes entre papel por 12 horas seguida da remoção do tegumento e posterior imersão na solução utilizando as concentrações de 0,5 e 0,07%, respectivamente, por mais 12 horas a 30 °C<sup>50</sup>.

Com relação à emergência e número de plântulas normais, para as sementes de *S. macranthera* e *S. polyphylla*, estes resultados foram condizentes com os resultados médios percentuais de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio e teste de germinação. Já no caso do *H. chrysotrichus*, o teste de tetrazólio obteve resultados mais próximos da emergência e quantidade de plântulas normais do que o teste de germinação, possivelmente por conta de grande parte dos tecidos de reserva das sementes estarem comprometidos, classificando-as como não viáveis pelo teste de tetrazólio. No entanto, estruturas como a radícula e hipocótilo ainda estavam viáveis, nesse caso, ocorre a germinação pelo critério botânico, de protrusão da raiz primária maior ou igual a 2 mm, mas não refletirá a falta de reserva para a continuação do desenvolvimento da plântula, gerando dessa forma, plântulas anormais. Essa hipótese é corroborada pelas Regras para Análise de Sementes (RAS), nas quais plântulas anormais apresentaram sistema radicular em perfeitas condições, mas não mostram potencial para continuar seu desenvolvimento e crescimento para produzir uma planta normal<sup>20</sup>. Vale ressaltar que a espécie em questão é de curta viabilidade e já estava armazenada a algum tempo, portanto era esperado uma menor viabilidade do lote.

Isso reforça a importância de realizar, simultaneamente, a avaliação de plântulas e também a combinação do resultado de vários testes, questão discutida por Krzyzanowski, Vieira e França Neto<sup>37</sup>, pois a eficiência dos testes de vigor depende da finalidade do uso dos resultados e escolha adequada do método, tendo em vista a dificuldade em detectar níveis médios de vigor e estimar o potencial de emergência de plântulas em campo, e pensando na questão da urgência em obter resultados num curto período de tempo, os testes rápidos ganham destaque, e o incentivo à padronização para condução de cada teste é imprescindível para eliminar as variações na metodologia e garantir a confiabilidade das informações, sendo um desafio ainda maior para as espécies florestais nativas.

## 6. CONCLUSÕES

O pré-tratamento de escarificação, por corte na lateral, das sementes de *Senna macranthera* e *Senegalia polyphylla* foi eficiente para acelerar o processo de absorção da solução de tetrazólio. No caso da primeira, recomenda-se a adoção da concentração de 1% por 20 horas ou 0,5% por 24 horas, caso o tempo não seja um fator limitante, ambas a 40 °C. Para a segunda, recomenda-se a concentração de 0,5% por 6 horas a 40°C, pois utiliza uma menor quantidade de sal de tetrazólio, diminuindo seu custo. Já as sementes de *Handroanthus chrysotricha*, imersas diretamente na solução de tetrazólio, obtiveram uma coloração adequada nas concentrações de 0,5% por 6 horas ou 0,075% por 12 horas, também a 40 °C

## 7. REFERÊNCIAS

- 1- Dave, R.; Saint-laurent, C.; Murray, L.; Daldegan, G. A.; Brouwer, R.; Scaramuzza, C. A. M.; Raes, L.; Simonit, S.; Catapan, M.; Contreras, G. G. G.; Ndoli, A.; Karangwa, C.; Perera, N.; Hingorani, S.; Pearson, T., 2019 Second Bonn Challenge progress report. Application of the Barometer in 2018. Gland, Switzerland: IUCN. 80 p. Disponível em <https://infoflr.org/bonn-challenge-barometer> [Acesso em 16 de agosto de 2020].
- 2 - Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Adesão do Brasil ao Desafio de Bonn e à Iniciativa 20x20. 03 dez. 2016. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/adesao-do-brasil-ao-desafio-de-bonn-e-a-iniciativa-20x20> [Acesso em 6 de agosto de 2020].
- 3- Freire, J. M.; Urzedo, D. I. ; Piña-rodrigues, F. C. M., 2017. A realidade das sementes nativas no Brasil: Desafios e oportunidades para a produção em larga escala. Seed News,



p. 24-28. Disponível em: <http://doi.org/10.13140/RG.2.2.24162.02243/1> [Acesso em 16 de agosto de 2020].

4- Urzedo, D. I.; Neilson, J.; Fisher, R.; Junqueira, G. P. R., 2020. A global production network for ecosystem services: the emergent governance of landscape restoration in the brazilian amazon. *Global Environmental Change*, [S.L.]. Elsevier BV, v. 61. Disponível em : <http://dx.doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2020.102059> [Acesso em 16 de agosto de 2020].

5- Vieira, A.H.; Martins, E.P.; Pequeno, P.L.L.; Locatelli, M.; Souza, M.G., 2001. Técnicas de Produção de sementes Florestais. EMBRAPA/CPAF, 4p. (Circular Técnico, 205). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/863141/1/Cot205.pdf> [Acesso em 16 de agosto de 2020].

6- Araújo-neto, J.C.; Aguiar, I.B.; Ferreira, V.M.; César Paula, R., 2002. Caracterização morfológica de frutos e sementes e desenvolvimento pós-seminal de monjoleiro (*Acacia polyphylla* DC.). *Revista Brasileira de Sementes*, v.24, n.1, p.203-211. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222002000100029> [Acesso em 16 de agosto de 2020].

7- Cole, R. J.; Holl, K. D.; Keene, C. L.; Zahawi, R. A., 2011. Direct seeding of late-successional trees to restore tropical montane forest. *Forest Ecology and Management*, v. 261, n. 10, p. 1590-1597. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.06.038> [Acesso em 16 de agosto de 2020].

8 - Ceccon, E.; González, E. J.; Martorell, C., 2016. Is direct seeding a biologically viable strategy for restoring forest ecosystems? Evidences from a Meta-analysis. *Land Degradation and Development*, v. 27, n. 3, p. 511-520. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ldr.2421> [Acesso em 16 de agosto de 2020].

9- Campos-filho , J. Nmn Da. Costa , Ol De Sousa , S. Paulo, 2013. Semeadura direta mecanizada de florestas nativas no Xingu, Brasil Central, p.702-727. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10549811.2013.817341> [Acesso em 16 de agosto de 2020].

10- Merrit Dj, Dixon Kw, 2011. Restoration seed banks - a matter of scale. *Science* v. 332, p. 424–425. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1203083> [Acesso em 16 de agosto de 2020].

11- Guerin, N. *et al.* Avanços e próximos desafios da semeadura direta para a restauração ecológica. In: MARTINS, V.M. Restauração ecológica de ecossistemas degradados. Viçosa: Editora UFV, 2015, p. 333-376.

12- Masullo, L. S.; Piña-Rodrigues, F. C. M.; Figliolia, M. B.; Américo, C., 2011. Optimization of tetrazolium tests to assess the quality of *Platymiscium floribundum*, *Lonchocarpus muehlbergianus* and *Acacia polyphylla* DC. seeds. *Journal of Seed Science*, [S.L.], v. 39, n. 2, p. 189-197. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v39n2167534> [Acesso em: 16 outubro 2020].

- 13- Freitas *et al*, 2019. Avaliando o sucesso da semeadura direta para restauração de floresta tropical ao longo de dez anos. *Ecologia e manejo florestal*, v. 438, p. 224-232. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2019.02.024> [Acesso em 16 de agosto de 2020].
- 14- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto 10.586 de 18 de dezembro de 2020. Regulamenta a Lei nº 10.711 que dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudanças. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2019-2022/2020/Decreto/D10586.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2019-2022/2020/Decreto/D10586.htm) [Acesso em 29 janeiro 2021].
- 15- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa MAPA nº 42, de 17 de setembro de 2019. Regulamenta a produção, a comercialização e a utilização de sementes e mudas de espécies florestais, nativas e exóticas, visando garantir sua procedência, identidade e qualidade. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 9 dez. 2011. Seção 1.
- 16- Piña-Rodrigues, F.C.M.; Valentini, S.R.T. Teste De Tetrázólio, 1995. In: Silva, A.; Piña-rodrigues, F.C.M.; Figliolia, M.B. (Coords.). *Manual de análise de sementes florestais*. São Paulo: Instituto Florestal. p. 61-73. (Série Registros, 14).
- 17- Davide, A.C.; Malavasi, M.M.; Oliveira, L.M.; Machado, C.F.; Tonetti, O.A.O., 1997. Uso do teste de tetrázólio para avaliar a qualidade de sementes de pau-santo (*Kielmeyera coriacea* (Pr.) Mart.) - Guttiferae. *Informativo ABRATES*, v.7, n.1/2, p.219.
- 18 - Fogaça, C. A.; Malavasi, M. M.; Zucareli, C.; Lmalavasi, U. C., 2006. Aplicação do teste de tetrázólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. *Caesalpinaceae*. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 28, n. 3, p. 101-107.
- 19 - Deminiciis, B.B.;Vieira, H.D.;Araújo,S.A.C;Jardim, J.G.; Pádua,F.T.; Chambela Neto, A., 2009. Dispersão natural de sementes: importância, classificação e sua dinâmica nas pastagens tropicais. *Archivos de Zootecnia*, v.58, p.35-58, . Disponível em: [http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/az.php?idioma\\_global=0&revista=148&codigo=1766](http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/az.php?idioma_global=0&revista=148&codigo=1766) [Acesso em 21 de novembro de 2020].
- 20- Brasil, 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: MAPA/ACS. 399p. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/2946\\_regras\\_analise\\_\\_sementes.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/2946_regras_analise__sementes.pdf) [Acesso em 21 de novembro de 2020].
- 21- AOSA - Association Of Official Seed Analysts. *Seed vigor testinghandbook*. EastLasing, 1983. 88p.
- 22- França Neto, J.B., 1999 Teste de tetrázólio 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, 218p.
- 23- Delouche, J. C.; Still, T. W.; Raspet, M.; Lienhard, M., 1976 O teste de tetrázólio para viabilidade da semente. Brasília: Ministério da Agricultura, AGIPLAN.
- 24- Fogaça, C.A.; Krohn, N.G.; Souza, M.A.; Paula, R.C., 2011. Teste de tetrázólio em sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. e *Schizolobium parahyba* Vell. Blake *caesalpinaceae*. *Floresta* (UFPR. Impresso), v. 41, p. 895-904. Disponível em:

<http://revistas.ufpr.br/floresta/article/viewFile/25352/16990> [Acesso em 11 de janeiro de 2021].

25 - Roversi, T.; Theisen, G., 2005 Teste de tetrazólio. Informativo Fundacep, v.12, n.1, p.1-2.

26- Lohmann, L.G. *Handroanthus* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB114078> [Acesso em 12 de janeiro 2021]

27- Bortoluzzi, R.L.C.; Lima, A.G.; Souza, V.C.; Rosignoli-oliveira, L.G. Conceição, A.S. *Senna* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB28204> [Acesso em 12 de janeiro de 2021].

28- Instituto de Pesquisas Ecológicas - IPE. *Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose. Disponível em: <http://flora.ipe.org.br/sp/111> [Acesso em 30 de janeiro de 2021].

29- Maia-Silva, C.; Silva, C.I.; HRNCIR, M.; Queiroz, R.T.; Imperatriz Fonseca, V.L. Guia de plantas: visitadas por abelhas na Caatinga. 1. ed. Fortaleza: Editora Fundação Brasil Cidadão, 2012. 196 p.

30- Barbedo, C. J.; Santos Junior, N. A. dos, 2018. Sementes do Brasil. Publicado em: São Paulo. Instituto de botânica - InB. ISBN 978-85-7523-068-8.

31- Freire, J.M.; Urzedo, D.I.; Piña-Rodrigues, F.C.M., 2017. A realidade das sementes nativas no Brasil: desafios e oportunidades para a produção em larga escala. *Seed News*, 21(5), 24-28.

32- França Neto, J. B., 2016. Evolução do conceito da qualidade das sementes. *Seed News*. 10ª ed. Disponível em: <https://seednews.com.br/artigos/710-evolucao-do-conceito-da-qualidade-das-sementes-edicao-setembro-2016> [Acesso em 14 Jan. 2021].

33- Piña-Rodrigues, F. C. M.; Figliolia, M. B.; Silva, A. da. 2015. Sementes Florestais Tropicais: da ecologia à produção. Publicado em: Londrina, PR. Ed Abrates. ISBN 978-58-64895-04-1.

34- Vechiato M. H., Parisi J.J.D., 2013. Importância da qualidade sanitária de sementes de florestais na produção de mudas. Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, São Paulo, v.75, n.1, p.27-32. Disponível em: [http://www.biológico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v75\\_1/vechiato.pdf](http://www.biológico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v75_1/vechiato.pdf) [Acesso em 14 de janeiro de 2021]

35- Marcos-filho, J.; Cicero, S. M.; Silva, W. R., 1987 Avaliação da qualidade fisiológica das sementes. Piracicaba: FEALQ, 230p.

36- Schuch, L. O. B. ; Kolchinski, E. M.; Finatto, J. A., 2009. Qualidade Fisiológica da Semente e Desempenho de Plantas Isoladas em Soja. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 31, nº 1, p.144-149. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbs/v31n1/a16v31n1.pdf> [Acesso em 15 de janeiro de 2021].

- 37- Krzyzanowski, F. C.; Vieira, R. D.; França Neto, J. de B., 1999. Vigor de Sementes: Conceitos e Testes. Publicado em: Londrina, PR, Brasil. Ed Abrates.
- 38 - International Seed Testing Association (ISTA), 1981. Handbook of vigour test methods. Zurich, Switzerland, 72p.
- 39 - Marcos-Filho, J., 2015. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola*. v.72, n.4, p.363-374. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/sa/v72n4/0103-9016-sa-72-4-0363.pdf> [Acesso em 16 de janeiro de 2021].
- 40- Franca-Neto, J. De B.; Krzyzanowski, F. C., 2019. Tetrazolium: an important test for physiological seed quality evaluation. *Journal of Seed Science*, v. 41, n.3, p. 359-366. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2317-15372019000300359](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372019000300359) [Acesso em 16 de janeiro de 2021].
- 41- Costa, N.P.; França-neto, J.B.; Kryzanowski, F.C.; Henning, A.A., 2007. Metodologia alternativa para o teste de tetrazólio em sementes de soja – Série Sementes. *Circular Técnica*, n.39, 8p. Disponível em: [http://www.cnpso.embrapa.br/download/pdf/cirtec39\\_sementes.pdf](http://www.cnpso.embrapa.br/download/pdf/cirtec39_sementes.pdf) [Acesso em 20 de janeiro de 2021].
- 42- Zucareli, C.; Malavasi, M. M.; Fogaça, C. A.; Malavasi, U. C., 2001. Preparo e coloração de sementes de farinha-seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Burr) para o teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 23, n. 2, p. 186-191.
- 43- Santana, D. G.; Ranal, M. A., 2004. Análise da germinação: um enfoque estatístico. Brasília: Editora UnB.
- 44- Carvalho D. B. de; Carvalho, R. I. N. de, 2009. Qualidade fisiológica de sementes de guanxuma em influência do envelhecimento acelerado e da luz envelhecimento acelerado e da luz. *Acta Scientiarum. Agronomy*, Maringá, v. 31, n. 3, p. 489-494. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v31i3.585> [Acesso em 14 de janeiro de 2021].
- 45- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/> [Acesso em 12 de dez. de 2020].
- 46- Pinto, T. L. F.; Brancalion, P. H. S.; Novembre, A. D. L. C.; Cicero, S. M., 2008. Avaliação da viabilidade de sementes de coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora* BENTH. - FABACEAE-FABOIDEAE) pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 30, n. 1, p. 208-214.
- 47- Fogaça, C.A.; Krohn, N.G.; Souza, M.A.; Paula, R.C., 2011. Teste de tetrazólio em sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. e *Schizolobium parahyba* Vell. Blake caesalpinaceae. *Floresta (UFPR. Impresso)*, v. 41, p. 895-904. Disponível em: <http://revistas.ufpr.br/floresta/article/viewFile/25352/16990> [Acesso em 13 de janeiro de 2021].
- 48- Zucareli, C.; Malavasi, M. M.; Fogaça, C. A.; Malavasi, U. C., 2001. Preparo e coloração de sementes de farinha seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Burr.) para o teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 23, n. 2, p.186-191.

49- Abbade, L. C.; T., M., 2014. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith - bignoniaceae, submetidas ao armazenamento. *Revista Árvore*, [S.L.], v. 38, n. 2, p. 233-240. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-67622014000200003> [Acesso em 16 de outubro de 2020].

50- Oliveira, L. M. de; Carvalho, M. L. M. de; Nery, M. C., 2005. Teste de tetrazólio em sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. E *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley - Bignoniaceae. *Revista Ciência Agronômica*, a, v. 36, n. 2. p. 169-174.  
Disponível em:  
<http://www.ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/264> [Acesso em 16 de outubro de 2020].