UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

MARIÁ MORAES AMORIM

TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES LABE LABE

ALEGRE-ES
2011

MARIÁ MORAES AMORIM

TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DE LABE LABE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia.
Orientador: Prof. Dr. Bruno Borges Deminicis.

ALEGRE-ES
2011

MARIÁ MORAES AMORIM

TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DE LABE LABE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia.

Aprovado em 13 de junho de 2011.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Bruno Borges Deminicis
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Prof. Dr. Henrique Duarte Vieira
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

D.Sc. Renata Vianna Lima
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

M.Sc. Tatiana Oliveira da Silva
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

DEDICATORIA

A minha família, pelo apoio e confiança incondicional depositados em mim. Em especial à minha mãe Alair de Oliveira Moraes Amorim, por me apoiar em todos os momentos, impedindo que eu desisti-se mesmo diante das maiores dificuldades.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me guiar na direção certa e pelo discernimento, força e alegria concedidos a mim.

Agradeço infinitamente à minha Mãe, pelo exemplo de superação, pelo empenho em educar os filhos, fazendo dos nossos estudos prioridade, especialmente por ter sido minha primeira professora. Ao meu Pai, agradeço por ser incansável na busca pela realização dos meus desejos. Aos meus Irmãos, pela amizade sincera e incondicional proteção.

A tia Zezé, por ser mais que tia, mais que madrinha, por ser verdadeiramente minha segunda Mãe. Obrigada por tanto carinho, preocupação, e apoio.

Aos meus Avós, em especial ao meu Avô João Victorio de Moraes (*in memorian*) pelo exemplo de vida e a minha Avó Jander Porto Amorim (*in memorian*) por todos os ensinamentos. A todos os Tios e Primos, obrigada pela confiança e força.

Agradeço a todos os professores que passaram pela minha formação e pela contribuição na construção do meu conhecimento. À Prof.ª *M.Sc.* Zelia Terezinha Gai, por ter sido minha primeira orientadora, por todos os ensinamentos e por toda paciência dispensada a uma caloura.

Agradeço especialmente ao Prof. Dr. Bruno Borges Deminicis, meu orientador, pela eficiência, pela dedicação e mais ainda pela boa vontade. Enfim, por ser verdadeiramente merecedor do adjetivo Orientador.

Agradeço ao Prof. Dr. Henrique Duarte, a *D.Sc.* Renata Vianna Lima e a *M.Sc.* Tatiana Oliveira da Silva, componentes da banca examinadora, pela avaliação do trabalho, orientação e sugestões fornecidas.

Agradeço ao Prof. Dr. José Carlos Lopes por ter cedido o Laboratório de Sementes para realização deste estudo. E à equipe de trabalho, pela contribuição na realização do experimento.

Aos amigos que conquistei durante o curso, pelos infinitos e inesquecíveis momentos compartilhados e que nós vivemos tão intensamente, todo meu agradecimento e carinho.

A Universidade Federal do Espírito Santo, especialmente ao Centro de Ciências Agrárias.

A todos que não foram citados, mas que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui. Muito obrigada!

"É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar;

é melhor tentar, ainda que em vão, que sentar-se fazendo nada até o final.

Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias tristes em casa me esconder.

Prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver..."

Martin Luther King

"Quando me desespero, lembro-me que em toda a história, o caminho da verdade e do amor sempre venceu. Houve tiranos e assassinos e por um tempo eles parecem invencíveis, mas no final, eles sempre caem – pense nisso, Sempre."

Mahatma Gandhi

BIOGRAFIA

MARIÁ MORAES AMORIM, filha de Alair de Oliveira Moraes Amorim e André Luiz Porto Amorim, nasceu no dia 24 de Novembro de 1986, na cidade de Mimoso do Sul, região Sul do Espírito Santo.

Concluiu o Ensino Médio no ano de 2003 na "Escola Estadual de Ensino Fundamental e Médio Aristeu Aguiar", no município de Alegre-ES. Ingressou no Curso de Nutrição na Faculdade Redentor em Itaperuna-RJ, no segundo semestre de 2004. Em 2005 trancou o curso para buscar a realização de um sonho, ingressar no Curso de Zootecnia em uma Universidade Federal.

No ano de 2007 iniciou o Curso de Zootecnia na Universidade Federal do Espírito Santo, em Alegre-ES, submetendo-se à defesa do Trabalho de Conclusão de Curso em Junho de 2011.

SUMÁRIO

RESUMO vii

ABSTRACT viii

1. INTRODUÇÃO 1

2. REVISÃO DE LITERATURA 3

2.1. LABE LABE 3

2.2. QUALIDADE DE SEMENTES 3

2.2.1 Teste de Germinação 4

2.2.2 Teste de Tetrazólio 4

3. MATERIAL E MÉTODOS 7

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 10

5. CONCLUSÃO 13

6. REFERÊNCIAS 14

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo verificar a eficiência de diferentes métodos de pré-condicionamento e concentrações da solução de tetrazólio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Labe Labe. As sementes passaram pelo processo de envelhecimento acelerado para compor os lotes de 0, 24, 48 e 96 horas, e foram submetidas aos métodos de pré-condicionamento: a) escarificação manual com lixa e imersão em água a 25ºC por 24 horas; b) imersão em água a 95ºC e manutenção das sementes na mesma água por 24 horas, fora do aquecimento. Após o pré-condicionamento, o tegumento foi retirado e as sementes imersas em solução de tetrazólio a 0,25; 0,5 e 1,0% por 150 minutos a 25ºC. Para comparação dos resultados obtidos no teste de tetrazólio, foram realizados os testes de germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação. O pré-condicionamento das sementes com imersão em água a 95ºC e manutenção das sementes na mesma água por 24h a 25ºC parece ser o mais indicado para sementes de Labe Labe, e a imersão em solução de tetrazólio a 0,5% por 150 minutos a 25ºC mostrou-se eficaz na avaliação da qualidade fisiológica das sementes desta espécie.

ABSTRACT

This study aimed to verify the efficiency of different methods of pre-conditioning and concentrations of tetrazolium solution in the evaluation of seed physiological quality *Dolichos lablab*. The seeds have gone through the process of accelerated aging to make batches of 0, 24, 48 and 96 hours, they were subjected to methods of preconditioning: a) scarification with sandpaper, immersion in water at 25℃ for 24 hours; b) immersion in water at 95℃ and keeping the seeds in the same water for 24 hours away from heat. After preconditioning, the seed coat was removed and the seeds soaked in tetrazolium solution at 0,25; 0,5 and 1,0% for 150 minutes at 25℃. To compare the results obtained in the tetrazolium test, were performed germination, first count and speed of germination índex. The preconditioning of the seeds with water immersion at 95ºC and keeping the seeds in the same water for 24h at 25℃ appears to be the most suitable for seed Lab Lab, and immersion in a solution of tetrazolium 0,5% for 150 minutes at 25℃ proved effective in evaluating the physiological quality of seeds of this species.

1. INTRODUÇÃO

Labe Labe (*Dolichos lablab*) pertence à família Fabaceae (Leguminosa) e acredita-se que seja originária da Índia, Sudeste Asiático ou África. Atualmente tem sido cultivada e distribuída nos trópicos e subtrópicos (AGANGA e TSHWENYANE, 2003). É muito popular na Índia, sudeste da Ásia, Egito e no Sudão (EVANS, 2002), no Brasil é utilizada principalmente para adubação verde, podendo também ser empregada na alimentação animal.

O seu plantio é feito através de sementes, assim é importante que se conheça o potencial de armazenamento do lote de sementes, pois a comercialização destes baseia-se, principalmente, no valor cultural dos mesmos. Dos parâmetros de qualidade utilizados para determinação do valor cultural de lotes de sementes, somente a porcentagem de germinação pode sofrer alterações durante o período de armazenamento, diminuindo significativamente o valor cultural do lote de sementes (USBERTI, 1982).

O desenvolvimento de testes rápidos visando à determinação da qualidade fisiológica de sementes tem sido um dos principais objetivos dos tecnologistas de sementes há vários anos, principalmente por permitir a tomada de decisão rápida nos programas de controle de qualidade. Dentre esses testes, destaca-se o teste de tetrazólio por possibilitar a avaliação do potencial fisiológico das sementes com rapidez e eficiência quando executado criteriosamente (CERVI e MENDONÇA, 2009).

O teste de tetrazólio reflete a atividade das enzimas desidrogenases, envolvidas no processo de respiração. Pela hidrogenação do 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio é produzida nas células vivas uma substância vermelha, estável e não difusível, o trifenil formazan. Isto torna possível distinguir as partes vivas, coloridas de vermelho, daquelas mortas que mantêm sua cor (DELOUCHE et al., 1976). Segundo Oliveira et al. (2005), para a realização do teste, são indicados procedimentos, chamados de pré-condicionamento, como corte, escarificação e embebição em água. Além do pré-condicionamento, é fundamental a utilização de concentração da solução de tetrazólio, tempo e temperatura de condicionamento e avaliação correta da coloração.

Assim este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de diferentes métodos de pré-condicionamento e concentrações da solução de tetrazólio na avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes de Labe Labe.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. LABE LABE

Segundo Aganga e Tshwenyane (2003) o primeiro plantio de Labe Labe ocorreu em 1819, quando sementes desta espécie oriundas do Egito foram plantadas no Jardim Botânico de Sydney, Nova Gales do Sul. Entretanto só após o lançamento do cultivar “Rongai” em 1962, tornou-se amplamente utilizada como forragem na Austrália. Desta forma, o Labe Labe tem sido amplamente distribuido para muitos países tropicais e subtropicais, onde tornou-se naturalizado (AGANGA e TSHWENYANE, 2003).

Segundo Evans (2002) o Labe Labe possui hábito de crescimento volúvel, além de ser ereto, anual ou perene de curta duração, crescendo até um metro de altura, com longas raízes e flores roxas ou brancas. A germinação ocorre geralmente dentro de cinco dias após o semeio (AGANGA e TSHWENYANE, 2003).

O Labe Labe pode ser utilizado na alimentação animal tanto para pastejo quanto na forma de silagem. É a principal cultura forrageira no Kenia, Zimbabue e Sudão. Tem sido também conhecida por seu uso como adubo verde, a adição de matéria orgânica, bem como nitrogênio e minerais no solo (AGANGA e TSHWENYANE, 2003).

2.2. QUALIDADE DE SEMENTES

Segundo Alves e Sá (2010) a qualidade da semente utilizada no processo de produção agrícola é um dos principais fatores a ser considerado para a implantação da cultura e há consenso entre os pesquisadores, tecnologistas e produtores de sementes sobre a importância do vigor das sementes e da necessidade de avaliá-lo. Alguns resultados de pesquisa apontam que a baixa qualidade fisiológica de sementes pode resultar em reduções na velocidade de emergência e emergência total, desuniformidade de emergência, menor tamanho inicial de plântulas, produção de matéria seca e na área foliar (HÖFS et al., 2004, KOLCHINSKI et al., 2006).

Existem diferentes testes para análise da qualidade de sementes, o teste de germinação é um deles, e é o mais utilizado, entretanto não proporciona resultados

rápidos. Desta forma, é cada vez maior a busca por testes rápidos, sendo o teste de tetrazólio um dos mais utilizados recentemente (OLIVEIRA et al., 2005; NOVEMBRE et al., 2006; FERREIRA et al., 2007; DIAS e ALVES, 2008; SOUZA et al., 2009; LAMARCA et al, 2009; DEMINICIS et al., 2009; COSTA e SANTOS, 2010).

2.2.1 Teste de Germinação

O Teste de germinação tem como objetivo determinar o potencial máximo de germinação de um lote de sementes, o qual pode ser usado para comparar a qualidade de diferentes lotes e também estimar o valor para semeadura em campo. Recomenda-se a utilização como substrato: papel, areia ou água. Os equipamentos necessários são germinadores e contadores de sementes (BRASIL, 2009).

A germinação é afetada por fatores internos e externos; os internos são os intrínsecos da semente, como longevidade e viabilidade; já os fatores externos dizem respeito às condições ambientais, como umidade e temperatura (OLIVEIRA e MEDEIROS FILHO, 2007).

Conhecer as condições que proporcionem germinação rápida e uniforme das sementes é extremamente útil para fins de semeadura. A germinação rápida e o desenvolvimento homogêneo de plântulas reduzem os cuidados por parte dos viveiristas, uma vez que as mudas se desenvolverão mais rapidamente, promovendo um povoamento mais uniforme no campo, onde estarão expostas às condições adversas do ambiente (PACHECO et al., 2006).

2.2.2 Teste de Tetrazólio

O principal desafio das pesquisas sobre testes de vigor está na identificação de parâmetros relacionados à deterioração das sementes que precedem a perda da capacidade germinativa. Dessa forma, torna-se importante o uso de testes que possibilitem a detecção dos estágios iniciais da deterioração, relacionados ao sistema de membranas, atividade enzimática e redução dos mecanismos energéticos. Dentro deste contexto, destaca-se o teste de tetrazólio (LAMARCA et al., 2009).

De acordo com a Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), o Teste de Tetrazólio tem como objetivo determinar rapidamente a viabilidade de sementes, particularmente, daquelas que apresentam dormência, das espécies recalcitrantes e as que germinam lentamente em testes de rotina e determinar a viabilidade das sementes em amostras ou individualmente, quando no final do teste de germinação ocorrer uma alta porcentagem de sementes não germinadas.

O teste de tetrazólio consiste em um método rápido para avaliar a viabilidade e o vigor de sementes, baseando-se na atividade de enzimas do grupo das desidrogenases, presentes nos tecidos vivos. Neste teste, as sementes permanecem em contato com uma solução incolor de cloreto de tetrazólio (2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio), que é absorvida pelos tecidos da semente. 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 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio reage, formando um composto insolúvel e estável, de coloração avermelhada, denominado trifenilformazan (DELOUCHE et al., 1976).

A intensidade e localização das partes coloridas e descoloridas são utilizadas para a interpretação do teste. As sementes viáveis tendem a absorver a solução de tetrazólio lentamente, desenvolvendo coloração mais suave do que sementes deterioradas, que adquirem coloração vermelho forte. Os tecidos mortos, nos quais não há atividade dessas enzimas, são caracterizados pela coloração branca, verde ou amarelados e textura flácida (FRANÇA NETO, 1999).

Diversos fatores podem interferir na obtenção de resultados satisfatórios no teste de tetrazólio, principalmente aqueles relacionados à metodologia de execução como preparo das sementes antes da coloração, concentração da solução de tetrazólio, período e temperatura de exposição à solução e critérios de interpretação (OLIVEIRA et al., 2009).

O início do preparo da semente para o teste de tetrazólio é a hidratação dos tecidos. A hidratação da semente facilita o preparo da semente e a absorção da solução de tetrazólio e ativa o sistema enzimático. A absorção de água deve ser lenta para evitar trincas nas sementes ou a lixiviação de substâncias solúveis, principalmente, em sementes deterioradas (CHAMMA e NOVEMBRE, 2007).

O Teste de Tetrazólio tem se mostrado eficiente na avaliação do vigor de sementes de algumas espécies, tais como: canafístula (OLIVEIRA et al., 2005), cunhã (DEMINICIS et al., 2009), pau-brasil (LAMARCA et al., 2009), corezeiro

(MENDES et al., 2009), triticale (SOUZA et al., 2010) e leucena (COSTA e SANTOS, 2010).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Sementes do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, no período de Janeiro a Março de 2011. Foram utilizadas sementes comerciais de Labe labe da cultivar Rongai (*Dolichos lablab*) produzidas no ano de 2009. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x3 (2 pré-condicionamentos e 3 concentrações) com 4 repetições de 25 sementes.

Para o Teste de Tetrazólio foram utilizados 4 lotes de sementes e para a confecção destes lotes, as sementes adquiridas comercialmente da safra de 2009, foram acondicionadas sobre tela metálica acoplada em caixa plástica do tipo gerbox contendo ao fundo 40 ml de água e submetidas a 0, 24, 48 e 96h de envelhecimento acelerado, em estufa de ventilação forçada à 45ºC (SANTOS e PAULA, 2007). O experimento foi composto por dois pré-condicionamentos: a) as sementes foram lixadas até a pequena exposição dos cotilédones, usando lixa d'água n° 100, compreendendo assim a escarificação, e posteriormente imersas em 25 ml de água por 24 horas, a 25℃; b) as sementes intactas foram imersas em 25 ml de água à temperatura de 95℃ e deixadas por 24 horas em repouso na mesma água, fora do aquecimento.

Decorrido o tempo de repouso, os tegumentos das sementes foram cuidadosamente retirados com Lâmina bisturi e as sementes foram colocadas em copos plásticos, sendo totalmente submersas em solução de tetrazólio (pH 6,5) nas concentrações de 0,25; 0,5 e 1%, mantidas no escuro à temperatura de 25ºC por 150 minutos.

Após o desenvolvimento da coloração, as sementes foram retiradas da imersão e os cotilédones separados no sentido longitudinal ao centro, compreendendo os cotilédones e o eixo embrionário. As duas metades foram individualmente examinadas e, de acordo com a extensão, intensidade dos tons avermelhados, presença de áreas brancas leitosas, aspecto dos tecidos e localização destas colorações em relação às áreas essenciais ao crescimento, as sementes foram individualmente colocadas em categorias de viáveis e inviáveis, de acordo com padrões publicados por ISTA (1993), Figura 1.

O teste de germinação foi conduzido entre papel, com duração de 14 dias, em germinadora do tipo BOD à 27ºC com fotoperíodo de 18 horas, utilizando quatro repetições de 25 sementes, adaptado de Brasil (2009).

1-Todas as estruturas do embrião intactas e coloração superficial e uniforme indicando lenta penetração da solução de tetrazólio (Viável).

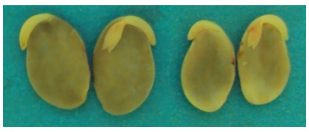
2-Sementes com pequenos danos superficiais na face externa dos cotilédones. A face interna dos cotilédones e o eixo embrionário não apresentam sinais de danos (Viável).

3-Sementes com pequenas fraturas nos cotilédones, áreas brancas ou vermelho carmim na face externa e interna dos cotilédones e eixo embrionário intacto (Viável).

4-Os danos são caracterizados por fraturas ou estrias visíveis na superfície interna dos cotilédones. Apresentam áreas vermelhas-carmim forte, ou branco leitoso. Os danos podem afetar o eixo embrionário (Inviável).

5-Os danos são mais severos, como fraturas nos cotilédones ou no eixo embrionário, porém mais da metade dos cotilédones permanecem viáveis (Inviável).

6-Região dos cotilédones com coloração vermelho-intenso ou descolorida, afetando o eixo-embrionário (Inviável).



7-Tecidos coloração original ou branco-leitoso, textura flácida (Inviável).

Figura 1. Categorias de sementes de *Dolichos lablab* submetidas ao teste de tetrazólio (ISTA, 1993).

O índice de velocidade de germinação foi calculado conforme fórmula adaptada daquela proposta por Maguire (1962): IVG=(G1/D1)+(G2/D2)+(Gn/Dn), em que: G=número de plantas germinadas, na primeira, segunda, ..., última contagem e

D= número de dias da semeadura à primeira, segunda, ..., última contagem. Os valores da primeira contagem foram obtidos no 3º dia após a montagem do teste de germinação. Os dados obtidos nos testes de tetrazólio, germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação foram transformados em arcsen $\sqrt{x}/100$ e submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% (FERREIRA, 2000).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados apresentados na Tabela 1, pode-se observar que não houve diferença significativa entre os testes de germinação e tetrazólio para o lote de 24 horas de envelhecimento, enquanto, para os lotes de 0 e 48 horas de envelhecimento em todas as concentrações a germinação foi subestimada, provavelmente devido ao fato de que em métodos indiretos de avaliação nem sempre é possível identificar por quais fatores o teste está sendo afetado.

Tabela 1. Resultados dos testes de tetrazólio e germinação (TG), Primeira contagem do teste de germinação (1ªC) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de *Dolichos lablab* (TZ 0,25 = 0,25% da solução de tetrazólio, TZ 0,5 = 0,5% da solução de tetrazólio e TZ 1,0 = 1% da solução de tetrazólio).

	Lotes				
Testes	0 horas	24 horas	48 horas	96 horas	CV%
TZ 0,25	69,63 Ba	72,34 Aa	30,04 Bb	0,00 Ac	25,20
TZ 0,5	78,69 Aa	64,08 Aa	33,28 ABb	0,00 Ac	23,82
TZ 1,0	39,40 Cb	64,91 Aa	56,69 ABb	0,00 Ac	22,20
TG	88,00 Aa	72,00 Ab	58,00 ABb	0,00 Ac	12,89
1ªC	74,00 Ba	61,61 Aa	38,00 Ab	0,00 Ac	20,81
IVG	5,18 a	4,28 a	3,08 b	0,00 c	14,96
CV%	8,44	17,17	31,45	0,00	

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Teste de tetrazólio utilizando concentrações de 0,5 e 1,0% possibilitaram diferenciar os lotes 24 horas e 48 horas, desta forma, os resultados do presente estudo corroboram com os resultados obtidos por Fernandes et al. (2007), na qual os autores verificaram que a imersão em água por 24 horas, seguida da retirada do tegumento e posterior embebição em solução de tetrazólio a uma concentração de 0,5% por quatro horas permite a melhor visualização da coloração dos tecidos de sementes de coquinho-azedo (*Butia capitata*).

Mendes et al. (2009) verificaram que o teste de tetrazólio na concentração de 0,5% pode ser utilizado para avaliar a viabilidade das sementes de corezeiro (*Parkia velutina*), como complemento ao teste de germinação. Pinto et al. (2009) avaliando sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas*), verificaram que hidratação das sementes entre papel até que as mesmas atinjam 30% de água, seguida pela remoção do tegumento e a coloração do embrião em solução 0,5% de tetrazólio, durante 120 minutos, no escuro, a 40ºC é o procedimento mais indicado para realização do teste de tetrazólio para a referida espécie.

Oliveira et al. (2005) avaliando sementes de canafístula (*Peltophorum dubium*), verificaram que a escarificação manual e posterior embebição em água por 14 horas a 25ºC, e concentração 0,1% da solução de tetrazólio por 150 minutos a 25ºC permite avaliar a qualidade de lotes de sementes dessa espécie. Ferreira et al. (2007) avaliando sementes de guapuruvu (*Schizolobium parahyba*), verificaram que a concentração 0,05% da solução de tetrazólio permite avaliar, com eficácia, a qualidade dos lotes de sementes desta espécie.

Deminicis et al. (2009) avaliando sementes de cunhã (*Clitorea ternatea*), verificaram que escarificação manual utilizando lixa e posterior embebição em água por 14 horas, a 25ºC, e concentração de 0,3% da solução de tetrazólio por 2 horas e 30 minutos, a 25ºC, permite avaliar com clareza a viabilidade de sementes desta espécie. Costa e Santos (2010), recomenda para a realização do teste de tetrazólio em sementes de leucena (*Leucaena leucocephala*), após o pré-condicionamento, por 18 horas a 25ºC, realizar o corte lateral das sementes, seguido da imersão em água, a 30℃, por uma hora, e posterior remoção do tegumento e para a coloração, devendo utilizar solução de tetrazólio a 0,15%, por duas horas, a 35 ℃.

No pré-condicionamento com escarificação manual com lixa d'água nº100 e posterior embebição em água à 25º C, ocorreu uma grande absorção de água pelas sementes, o que provocou a separação dos cotilédones, que permaneceram unidos apenas pelo embrião. Dessa forma, o preparo das sementes para interpretação do teste de tetrazólio, foi mais intricado devido ao rompimento do embrião de algumas sementes.

Segundo Copeland et al. (1959), o pré-condicionamento antes da coloração constitui uma das etapas críticas do teste, sendo que a absorção lenta de água, em temperatura controlada, é extremamente desejável e necessária para prevenir fraturas de partes do embrião e estimular a atividade enzimática, que é um dos pré-

requisitos do processo respiratório. No presente estudo, provavelmente, a absorção mais lenta de água ocorreu quando as sementes foram submetidas ao pré-condicionamento com embebição em água à 95ºC, o que facilitou a manipulação das sementes e interpretação do teste. No entanto, não houve diferença significativa entre os dois métodos de pré-condicionamento (P>0,05), sendo desta forma verificado que o tratamento com embebição em água à 95ºC por ser de mais fácil execução apresenta menor perda. Baskin e Baskin (1996) observaram que o tratamento com água quente foi eficiente como pré-condicionamento de sementes de *Senna marilandica* e *Senna obtusifolia* para o teste de tetrazólio.

5. CONCLUSÃO

O pré-condicionamento com embebição em água a 95℃ e a realização do teste de tetrazólio utilizando a concentração de 0,5% da solução de tetrazólio por 150 minutos à 25ºC, é o método mais eficiente para avaliar a qualidade de lotes de sementes de *Dolichos lablab*.

6. REFERÊNCIAS

AGANGA, A.A.; TSHWENYANE, S.O. Lucerne, Lablab and *Leucaena leucocephala* Forages: Production and Utilization for Livestock Production. **Pakistan Journal of Nutrition,** Faisalabad, v.2, n.2, p.46-53, 2003.

ALVES, C.Z.; SÁ, M.E. Avaliação do vigor de sementes de rúcula pelo teste de lixiviação de potássio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n.2, p.108-116, 2010.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. Role of temperature and light in the germination ecology of buried seeds of weedy species of disturbed forests. II. Erechtites hieracifolia. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.74, n.2, p.2002-2005, 1996.

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

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

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

COPELAND, T.G.; BRUCE, C.F.; MIDYETT JUNIOR, Y.W. The unofficial application of tetrazolium tests as an aid in checking germination cains. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Oklahoma, v.49, p.134-141, 1959.

COSTA, C.J.; SANTOS, C.P. Teste de tetrazólio em sementes de leucena. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.32, n.2, p.066-072, 2010.

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

DEMINICIS, B.B.; VIEIRA, H.D.; SILVA, R.F. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Clitorea ternatea* L.. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.31, n.2, p.054-062, 2009.

DIAS, M.C.L.; ALVES, S.J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich) Stapf pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.30, n.3, p.145-151, 2008.

EVANS, D.O. Sustainable agriculture in Hawaii. Green manures: Legumes. Lablab. http://www2.ctahr.Hawaii.edu/sustainag/SustainableAg/GreenManures/lablab.asp., 2002.

FERNANDES, R.C.; MAGALHÃES, H.M.; LOPES, P.S.N.; BRANDÃO JÚNIOR, D.S.; GOMES, J.A.O.; PAULINO, M.A.O.; CARNEIRO, P.A.P. Elaboração da metodologia

de aplicação do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade das sementes de coquinho-azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v.2, n.2, p.1004-1007, 2007.

FERREIRA, D.F. **Sistema de análises de variância para dados balanceados**. Lavras: UFLA, 2000. (SISVAR 4. 1. pacote computacional).

FERREIRA, R.A.; OLIVEIRA, L.M.; TONETTI, O.A.O.; DAVIDE, A.C. Comparação da viabilidade de sementes de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake – Leguminosae Caesalpinioideae, pelos testes de germinação e tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.29, n.3, p.83-89, 2007.

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. cap. 8, p.1-7.

HÖFS, A.; SCHUCH, L.O.B.; PESKE, S.T.; BARROS, A.C.S.A. Emergência e crescimento de plântulas de arroz em resposta à qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.26, n.1, p.92-97, 2004.

ISTA - International Rules for Seed Testing. **Seed Science and Technology**, 1993. 363p. Supplement.

KOLCHINSKI, E.M. ; SCHUCH, L.O.B. ; PESKE, S.T. . Crescimento inicial de soja em função do vigor de sementes. **Revista Brasileira de Agrociência,** Pelotas, v.12, p.163-166, 2006.

LAMARCA, E.V.; LEDUC, S.N.M.; BARBEDO, C.J. Viabilidade e vigor de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil – Leguminosae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Botânica**, Água Funda, v.32, n.4, p.793-803, 2009.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedlig emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177,1962.

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

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

OLIVEIRA, A.B.; MEDEIROS FILHO, S. Influência de tratamentos pré-germinativos, temperatura e luminosidade na germinação de sementes de leucena, cv. Cunningham. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias.** Recife, v.2, n.4, p.268-274, 2007.

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

OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; DAVIDE, A.C. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert – Leguminosae Caesalpinioideae. **Cerne**, Lavras, v.11, n.2, p.159-166, 2005.

PACHECO, M.V.; MATOS, V.P.; FERREIRA, R.L.C; FELICIANO, A.L.P.; PINTO, K.M.S. Efeito de temperaturas e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.30, n.3, p.359-367, 2006.

PINTO, T.L.F.; MARCOS FILHO, J.; FORTI, V.A.; CARVALHO, C.; GOMES JUNIOR, F.G. Avaliação da viabilidade de sementes de pinhão manso pelos testes de tetrazólio e de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.31, n.2, p.195-2001, 2009.

SANTOS, S.R.G.; PAULA, R.C. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do vigor de lotes de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs (BRANQUILHO) – EUPHORBIACEAE. **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, v.19, n.1, p.1-12, 2007.

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

SOUZA, C.R.; OHLSON, O.C.; PANOBIANCO, M. Avaliação da viabilidade de sementes de aveia preta pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.31, n.3, p.057-062, 2009.

USBERTI, R. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de capim-colonião. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.04, n.1, p.23-30, 1982.