



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA



**PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA SEMENTES
DE *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake**

Moisés Pollak Júnior

Florianópolis - SC

2014

Moisés Pollak Júnior

**PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA
SEMENTES DE *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake**

Relatório de Estágio Obrigatório apresentado ao curso de graduação em Agronomia, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Dra. Roberta Sales Guedes
Local: Laboratório de Análises de Sementes-CCA/UFSC

Florianópolis - SC

2014

Moisés Pollak Júnior

**PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA SEMENTES DE
Schizolobium parahyba (Vell.) Blake**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela Comissão Examinadora
em:

Comissão Examinadora

Profa. Dra. Roberta Sales Guedes
Orientadora - FIT/CCA/UFSC

Profa. Dra. Rosete Pescador
Examinadora - FIT/CCA/UFSC

Msc. Marília Shibata
Examinadora - PPGRGV/CCA/UFSC

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela minha vida por ter me guiado e ter colocado pessoas queridas, amigas e essenciais que me deram força e apoio nesta caminhada.

A minha família pelos ensinamentos, carinho e apoio. A minha mãe, meu porto seguro, pelo amor incondicional e por acreditar no meu potencial.

A minha amiga Bruna do Nascimento Amorim pelo incentivo ao curso, amizade, carinho e propiciar ótimos momentos junto comigo na graduação. Aos amigos de longa data, Aline, Ana, Grazi, Jullie e Robson pela parceria de sempre.

Aos amigos da graduação, principalmente a turma 2009.1, por me receberem com muito carinho desde a primeira fase do curso, pelos momentos de alegria e de estudos antes das provas, pelos trabalhos em grupo, viagens, festas, enfim, pela amizade conquistada e convivência durante esses anos.

Aos amigos intercambistas, colegas e profissionais da UNE, no Paraguai, por terem me acolhido e propiciado um intercâmbio enriquecedor para minha vida e carreira acadêmica.

Aos professores pelas contribuições na minha formação e a todas as pessoas que com a sua cultura, jeito de pensar, de agir e de falar contribuíram para que eu pudesse perceber e olhar a vida e o mundo sob outras perspectivas.

Ao Luiz, Marília, Monique e todo o pessoal que trabalha e trabalhou no Laboratório de Sementes no período em que estive presente, por ter me acolhido e auxiliado na minha carreira acadêmica, além da amizade, é claro.

A minha orientadora Roberta, pela sua paciência, incentivo, aprendizado e conhecimentos repassados durante a realização deste trabalho.

Também quero agradecer a banca examinadora, MSc. Marília Shibata e Dra. Rosete Pescador, por disponibilizar tempo e interesse para com o trabalho aqui realizado e pelas contribuições advindas.

A todos que, de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado!

PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA SEMENTES DE *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake

RESUMO

A espécie arbórea *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake pertencente à família Fabaceae-Caesalpinioideae é uma árvore nativa do Brasil, com múltiplos usos na medicina popular, fabricação de móveis, paisagismo, artesanato e recuperação de áreas degradadas. A espécie propaga-se por sementes e o sucesso na formação de mudas depende do conhecimento da qualidade da semente, que por sua vez pode ser identificada pelo teste de tetrazólio. Objetivou-se padronizar a metodologia do teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade e o vigor de sementes de *S. parahyba*. O trabalho foi conduzido em duas etapas: a) estudo de procedimentos para determinação da viabilidade, utilizando-se três lotes de sementes e testando-se diferentes formas de pré-umedecimento (sementes sem e com escarificação, em papel toalha e imersão em água, nas temperaturas de 25°C e 35°C, por 24 e 48 h), preparo (com e sem retirada do tegumento) e coloração da semente (concentrações de 0,05; 0,075 e 0,1%, a 30°C e 40°C); b) estimativa do vigor das sementes pelo teste de tetrazólio, empregando-se três lotes de sementes. Realizou-se o teste de germinação em areia, a 30°C, com resultados expressos em porcentagem. Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%. O pré-umedecimento mais adequado para o teste de tetrazólio foi obtido com o uso de sementes escarificadas, imersas em água a 25°C, por 48 h e posterior retirada do tegumento. E para atingir a coloração ideal, os embriões devem ser imersos em solução de tetrazólio a 0,075% por 2 h, a 40°C. Embora a concentração de 0,1% colorisse mais rapidamente (1h30min), recomenda-se 0,075% por ser mais econômico e sem perda de tempo significativa. Foram definidas três classes para determinar a viabilidade e o vigor de sementes de *S. parahyba*. O teste de tetrazólio mostrou-se eficiente para avaliar a viabilidade e o vigor das sementes de *S. parahyba*.

Palavras-chave: garapuvu, viabilidade, pré-umedecimento, coloração.

SUMÁRIO

RESUMO	V
1. INTRODUÇÃO	07
2. OBJETIVOS	09
2.1. Objetivos Gerais.....	09
2.2. Objetivos Específicos.....	09
3. ATIVIDADES REALIZADAS	10
3.1. Revisão bibliográfica.....	10
3.1.1. Descrição da Espécie.....	10
3.1.2. Qualidade de Sementes.....	11
3.1.3. Vigor de Sementes.....	12
3.2. Material e Métodos.....	14
3.2.1. Local do experimento e coleta de sementes.....	14
3.2.2. Teste de Tetrazólio.....	15
3.2.2.1. Pré-umedecimento das sementes.....	15
3.2.2.2. Exposição dos tecidos para coloração.....	16
3.2.2.3. Coloração das sementes.....	17
3.2.3. Teste de Germinação.....	17
3.2.4. Delineamento estatístico.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
6. REFERÊNCIAS	31

1. INTRODUÇÃO

O presente relatório descreve as atividades desenvolvidas durante a disciplina de Estágio Curricular Obrigatório, do curso de Agronomia, da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). O estágio foi realizado no Laboratório de Análises de Sementes, do Centro de Ciências Agrárias (CCA/UFSC), no primeiro semestre de 2014, com início em abril e finalizando em junho, resultando na produção de um artigo científico que trata da padronização do teste de tetrazólio para sementes de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake. A espécie arbórea *S. parahyba*, pertencente à família Fabaceae-Caesalpinioideae, dependendo da região onde se encontra, é conhecida popularmente como garapuvu, gapuruvu, guapuruvu, fischeira, entre outros (CARVALHO, 2005). Ainda conforme descrição do autor a espécie destaca-se pelo uso da madeira na construção civil, naval, de móveis, brinquedos, embalagens, entre outros; além disso, é registrado o uso na medicina popular, já que sua casca produz propriedades terapêuticas adstringentes (CARVALHO, 2005). É uma das poucas espécies florestais que se utiliza na alimentação animal, pois sua forragem é composta por 17% a 24% de proteína bruta e 5% a 9% de tanino (LEME et al., 1994). É uma espécie pioneira, de rápido crescimento, de ampla distribuição geográfica, com dispersão anemocórica e polinização por abelhas (FREIRE et al., 2007).

A recorrente preocupação mundial com a qualidade ambiental tem exigido uma produção de mudas de espécies florestais com maior qualidade. E no Brasil não tem sido diferente, pois se evidencia um aumento considerável da demanda por sementes ou mudas de espécies florestais nativas destinadas a reposição obrigatória da mata nativa de propriedades rurais, especialmente para atender as exigências da implantação do novo código florestal (Lei nº 12.651, de 25 de maio de 2012) (BRASIL, 2012), além da legislação de produção de sementes e mudas (Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003) (BRASIL, 2003). Considerando-se que a maioria destas espécies propaga-se por sementes, inclusive a *S. parahyba*, o sucesso na formação de mudas depende do conhecimento da qualidade da semente utilizada.

Deste modo, os empreendimentos florestais - sejam para a implantação de florestas comerciais, recomposição de matas ciliares ou visando à recuperação de áreas degradadas - só terão base sólida e segura se utilizarem sementes de qualidade (GOMES e PAIVA, 2011). Portanto, não resta dúvidas de que é essencial conhecer a qualidade fisiológica das sementes florestais, sendo esta determinada por meio de testes de viabilidade e vigor.

A viabilidade tradicionalmente é determinada pelo teste de germinação, o qual permite expressar o máximo do potencial germinativo das sementes. Entretanto, tratando-se de espécies florestais, a obtenção dos resultados da viabilidade pode exigir longos períodos, restringindo a tomada de decisão durante o controle de qualidade das sementes. Para as sementes de *S. parahyba*, por exemplo, os resultados do teste de germinação são obtidos após 21 dias (BRASIL, 2013). Por consequência, procura-se desenvolver e aperfeiçoar testes rápidos e confiáveis que ofereçam a caracterização do potencial fisiológico das sementes.

Dos métodos existentes para avaliação da qualidade fisiológica da semente, tem-se usado o teste de tetrazólio para a avaliação rápida da viabilidade de sementes de várias espécies, sobretudo daquelas que possuem longos períodos de germinação, como é o caso de determinadas frutíferas, forrageiras e florestais (GUEDES et al., 2010). Assim, o teste de tetrazólio pode ser realizado para determinar a viabilidade e o vigor de sementes em um curto espaço de tempo, obtendo-se resultados rápidos e confiáveis, demonstrando maior vantagem em relação ao teste de germinação (MENDONÇA et al., 2001). Contudo, Guedes et al. (2010) afirmam que para obter a eficácia do teste na avaliação do vigor e viabilidade das sementes é necessário aplicar métodos apropriados para cada espécie, de modo a definir as condições mais apropriadas para o preparo, pré-condicionamento e coloração das sementes. Os autores ainda afirmam que dentre os fatores essenciais no preparo do teste, o período e a temperatura no pré-condicionamento se sobressaem por afetar diretamente na eficácia do teste.

Em virtude da problemática exibida, objetivou-se estabelecer procedimentos para padronização do teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade e o vigor das sementes de *Schizolobium parahyba*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Padronizar uma metodologia para avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de *Schizolobium parahyba* pelo teste de tetrazólio, bem como estabelecer classes de interpretação das sementes.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar procedimentos de pré-umedecimento para as sementes de *S. parahyba*;
- Indicar a concentração da solução de tetrazólio mais adequada para a realização do teste;
- Recomendar o período e temperatura para atingir coloração adequada;
- Realizar o teste de germinação para determinar o potencial máximo de germinação dos lotes de sementes e averiguar a eficácia do teste de tetrazólio.

3. ATIVIDADES REALIZADAS

Durante o estágio foram realizadas diversas atividades relacionadas à padronização da metodologia para avaliar a viabilidade e o vigor de sementes de *Schizolobium parahyba* pelo teste de tetrazólio. O trabalho foi conduzido em duas etapas: a) estudo de procedimentos para determinação da viabilidade, utilizando-se três lotes de sementes e testando-se diferentes formas de pré-umedecimento, preparo e coloração da semente, e concentrações da solução de tetrazólio; b) estimativa do vigor das sementes pelo teste de tetrazólio, empregando-se três lotes de sementes.

Antes e após a execução destas etapas foi realizado levantamento bibliográfico para construção do conteúdo científico da pesquisa. Portanto, adiante segue a revisão bibliográfica, como as etapas de materiais e métodos, resultados e discussão e considerações finais.

3.1 Revisão Bibliográfica

3.1.1 Descrição da espécie

A espécie nativa *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake, pertencente à família Fabaceae-Caesalpinioideae, dependendo da região onde se encontra é conhecida popularmente como garapuvu, gapuruvu, guapuruvu, ficheira, entre outros (CARVALHO, 2005). Pioneira, ocorre naturalmente na Bahia (Chapada Diamantina e sul) ao Rio Grande do Sul (extremo nordeste), membro característico da Floresta Ombrófila Densa, também demonstrando ocorrência no Sul do México até a América Central (CARVALHO, 1995; AGUIAR SOBRINHO, 1996).

O garapuvu é uma árvore heliófila, semicaducifólia, com uma copa ampla e umbeliforme, exibindo folhas alternas, compostas e bipinadas, além de flores amarelas grandes e vistosas reunidas em racemos (CARVALHO, 2005). A polinização da espécie é apícola e o seu florescimento é variado, conforme a região, ocorrendo de outubro a novembro no estado de Santa Catarina; a floração e a frutificação iniciam entre seis e oito anos (CARVALHO, 1995).

Sua semente é lisa, brilhante, oblonga-achatada, com tegumento duro, semelhantes a fichas, justificando o nome popular ficheira atribuído à árvore, em certas regiões do país (MARCHIORI, 1997). A semente apresenta dormência física, ou seja, possui impermeabilidade no tegumento que impede o acesso da água ao embrião. Entre as técnicas artificiais empregadas para quebrar a dormência física, destaca-se o uso de água fervente ou escarificação mecânica para sementes de *S. parahyba* (CANDIDO et al., 1981; FREIRE et al., 2007; MATHEUS e LOPES, 2007).

A espécie pode ser plantada a pleno sol, fator que explica o destaque da mesma na formação de grupamentos densos em grandes clareiras florestais e florestas secundárias, principalmente em condições ambientais e manejo adequado, pois é uma das espécies de mais rápido crescimento nas Regiões Sul e Sudeste (CARVALHO, 2003).

O garapuvu tem sido recomendado para sistemas silviagrícolas em associação com culturas perenes, como a bananeira, assim como de ciclos curtos, como a mandioca, visto que a espécie responde muito bem ao controle da vegetação invasora e à fertilização (CARPANEZZI, 1988). Também é empregada em programas de reflorestamento e reposição de mata ciliar em locais não sujeitos a inundação. Entre os produtos oriundos da madeira da *S. parahyba*, seu uso destaca-se na construção civil, naval, de móveis, brinquedos, embalagens, entre outros; além disso, é registrado o uso na medicina popular, uma vez que sua casca produz propriedades terapêuticas adstringentes (CARVALHO, 2005).

3.1.2 Qualidade de sementes

O padrão de qualidade de um lote de sementes é determinado através da análise de sementes. O conhecimento desta qualidade contribui para o sucesso do desenvolvimento das atividades relacionadas com o uso dessas sementes, como programas de reposição florestal, reflorestamento, recuperação de áreas degradadas, entre outros; Devido a crescente procura de espécies nativas no mercado de sementes, a insuficiência de dados referentes ao comportamento biológico de muitas espécies, assim como os padrões de comercialização, dificulta a formalização das atividades de comercialização e controle de qualidade com sementes oriundas de espécies silvestres nativas (WIELEWICKI et al., 2006).

De tal modo, a qualidade fisiológica da semente é fator fundamental para determinar a sua viabilidade e vigor. Na avaliação da qualidade fisiológica, o teste mais utilizado para definir a viabilidade de sementes é o teste de germinação, cujo objetivo é obter informações sobre o potencial máximo de um lote de sementes germinar sob condições ambientais favoráveis, estimando o valor para semeadura em campo (BRASIL, 2009). Entretanto, o teste de germinação não possui a capacidade de determinar o vigor das sementes, pois o vigor compreende um conjunto de características que preconizam o potencial fisiológico das sementes, quando submetidas a condições adversas de ambiente e manejo durante as etapas iniciais de desenvolvimento da planta (POPINIGIS, 1985). De acordo com Bhering et al. (2004), os dados gerados pelo teste de germinação quando complementados com a avaliação de vigor fornecem informações mais consistentes na determinação do potencial fisiológico das sementes.

Os testes de vigor constituem-se como ferramentas importantes, com uso cada vez mais constante e rotineiro para a determinação do potencial fisiológico de lotes de sementes (ABDO et al., 2005), sendo um componente fundamental de programas de controle de qualidade, pois constitui referência para adoção de práticas de manejo destinadas à garantia de nível satisfatório de desempenho (TORRES et al., 2009). Portanto, testes adicionais são necessários a fim de se obter uma melhor previsão da emergência das plântulas dentro de amplas condições de campo, além de fornecer dados seguros a cerca da qualidade dos lotes.

3.1.3 Vigor de sementes

Através da avaliação do vigor é possível detectar diferenças na qualidade fisiológica de lotes de sementes que demonstrem comportamentos distintos em condições de campo ou até mesmo durante o armazenamento, mesmo que possuam potencial germinativo similar. O uso de testes de vigor, portanto, é fundamental para o monitoramento da qualidade fisiológica das sementes, pois a queda do vigor precede a perda de viabilidade (FESSEL et al., 2010). E em relação às sementes de espécies florestais, a aplicação dos testes de vigor permite a comparação entre lotes, fornecendo dados adicionais, como por exemplo, em uma fase inicial de programa de melhoramento ou conservação

genética, já que os mesmos podem comparar as matrizes, progênes e procedências destas sementes (SANTOS e PAULA, 2009).

Se tratando de espécies florestais o tempo médio de germinação pode ser demasiadamente longo, assim demanda o acompanhamento do teste por dias, semanas e em alguns casos até meses. E isso, obviamente, impede a obtenção de resultados mais imediatos para tomada de decisões dentro da produção de sementes e mudas. Dentre os testes de vigor considerados rápidos, o teste de tetrazólio vem se destacando por ser uma alternativa viável para fornecer informações aos agricultores ou viveiristas, o qual vem sendo empregado, rotineiramente, na avaliação rápida da viabilidade de sementes de várias espécies, principalmente daquelas que necessitam de longos períodos para germinar, como é o caso de sementes de algumas frutíferas, forrageiras e florestais (GUEDES et al., 2010). Além disso, o teste de tetrazólio é o mais indicado, pois permite estimar a viabilidade e vigor das sementes, permitindo a identificação dos fatores que influenciam na qualidade destas, tornando-se assim, um teste eficiente e rápido (MARCOS FILHO, 2005). Por esta razão, Piña-Rodrigues e Valentini (1995) sugerem a utilização do teste de tetrazólio pelo fato que o mesmo mostra-se promissor para avaliação da viabilidade em sementes florestais, principalmente daquelas que exigem longo período de germinação, dificultando a obtenção dos resultados.

O teste possui como princípio a atividade do sistema de enzimas desidrogenases, as quais estão diretamente ligadas à viabilidade das sementes, que catalisam as reações respiratórias nas mitocôndrias durante o processo de respiração; As desidrogenases reduzem a solução de 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio (TCT) nos tecidos vivos, fazendo com que ocorra a coloração dos mesmos quando difundidos na solução do sal; A coloração é originada pela difusão do sal que forma uma substancia de cor avermelhada, estável e não difusível, denominada de Formazan (FRANÇA NETO, 1999). Os tecidos que mantêm sua cor natural e não reagem com a solução, são considerados inviáveis, pois os mesmos não estão apresentando atividade respiratória, considerando-se como tecidos mortos. Os tecidos que exibem coloração vermelho intensa também são considerados inviáveis, pois nesse caso, a coloração vermelha intensa se dá pelo tecido estar em processo de deterioração, fase em que as membranas ficam

mais permeáveis e acabam absorvendo mais sal da solução (DELOUCHE et al., 1976; FRANÇA NETO, 1999).

Para obter resultados confiáveis no teste de tetrazólio, deve-se executar uma metodologia adequada de modo a definir as condições mais apropriadas para o preparo, pré-condicionamento e coloração das sementes (GUEDES et al. (2010),). As condições de pré-tratamento, concentração da solução de tetrazólio e o tempo necessário para a coloração são extremamente específicas de cada espécie.

Apesar da importância, rapidez e precisão na determinação da viabilidade e do vigor, o teste de tetrazólio tem o uso ainda restrito, principalmente entre as sementes de espécies florestais. Todavia, para algumas espécies este teste já tem metodologia sugerida, tais como: *Jatropha elliptica* M. Arg. (ÃNEZ et al., 2007), *Parkia velutina* Benoist (MENDES et al., 2009), *Poecilanthe parviflora* Bentham (VALADARES et al., 2009), *Sebastiania commersoniana* (Baill) Smith e Downs (SANTOS e PAULA, 2009), *Hancornia speciosa* Gomes (BARROS et al., 2010), *Leucaena leucocephala* x *L. diversifolia* (COSTA e SANTOS, 2010), *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg (PINHO et al., 2011), *Copaifera langsdorffii* (FOGAÇA et al., 2011) e *Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy (DEMINICIS et al., 2014).

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Local do Experimento e Coleta de Sementes

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análise de Sementes (LAS), no Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina (CCA/UFSC). Foram utilizados três lotes de sementes de *S. parahyba*, procedentes de diferentes localidades no município Florianópolis - SC e coletados no chão depois do período de dispersão natural. Para cada lote coletou-se sementes de 10 árvores matrizes, que distanciavam entre si cerca de 50 a 100 m. Os lotes 1 e 2 foram coletadas em fevereiro de 2013, na Costa da Lagoa (Lote 1: 27°34'50.49"S 48°27'27.35"W; Lote 2: 27°34'32.85"S 48°27'32.08"W), já o lote 3 foi coletado em fevereiro de 2014, em populações nativas do Parque Ecológico do Córrego Grande (27°35'46"S 48°30'36"W).

Após a coleta as sementes foram conduzidas ao LAS, onde permaneceram armazenadas em condições ambiente. Em abril de 2014 iniciaram-se as avaliações da qualidade fisiológica (teste de germinação e protocolo para teste de tetrazólio).

3.2.2 Teste de Tetrazólio (TZ)

O teste de tetrazólio foi conduzido em duas etapas: a) estudo de procedimentos e testando-se diferentes formas de pré-umedecimento, preparo e coloração da semente, e concentrações da solução de tetrazólio para determinação da viabilidade, utilizando-se três lotes de sementes; b) estimativa do vigor das sementes pelo teste de tetrazólio, empregando-se três lotes de sementes.

3.2.2.1 Pré-umedecimento das sementes

O pré-umedecimento (hidratação) pode ser necessário para algumas espécies e expressamente recomendado para espécies que apresentam tegumento mais rígido (BRASIL, 2009). Para verificar se havia necessidade de hidratação e/ou remoção do tegumento para o embrião colorir, as sementes foram imersas diretamente em solução de tetrazólio (TZ) nas concentrações de 0,05; 0,075 e 0,1%, nas temperaturas de 30°C e 40°C, por um período de 24 e 48 h (Figura 1).

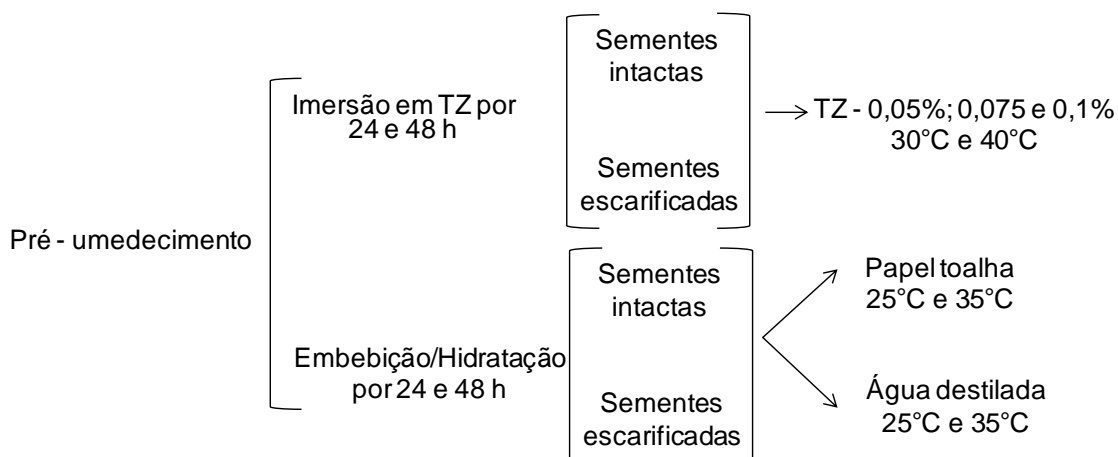


Figura 1. Diagrama dos tratamentos de pré-umedecimento das sementes de *Schizolobium parahyba*, antes da coloração em solução de tetrazólio.

Para esta análise foram utilizadas sementes intactas, ou seja, com o tegumento sem rupturas (sem escarificação) e sementes escarificadas (lixadas) com a utilização de um esmeril para atritar levemente na região oposta à micrópila da semente até pequena exposição dos cotilédones. Também se procedeu com a análise de métodos de pré-umedecimento que facilitasse a coloração ou mesmo a extração do tegumento e exposição dos embriões, caso necessário, para posterior coloração em solução de TZ, conforme demonstrado na Figura 1.

3.2.2.2 Exposição dos tecidos para coloração

Depois da aplicação dos métodos de pré-umedecimento, as sementes foram imersas em soluções de TZ nas concentrações de 0,05; 0,075 e 0,1%, em temperaturas de 30°C e 40°C, por um período de 24 e 48 h, a fim de verificar a necessidade de extração do tegumento para que ocorresse a coloração do embrião (Figura 2). Também se procedeu com a extração do tegumento, os quais foram removidos manualmente com o auxílio de uma pinça, evitando-se danos aos embriões.

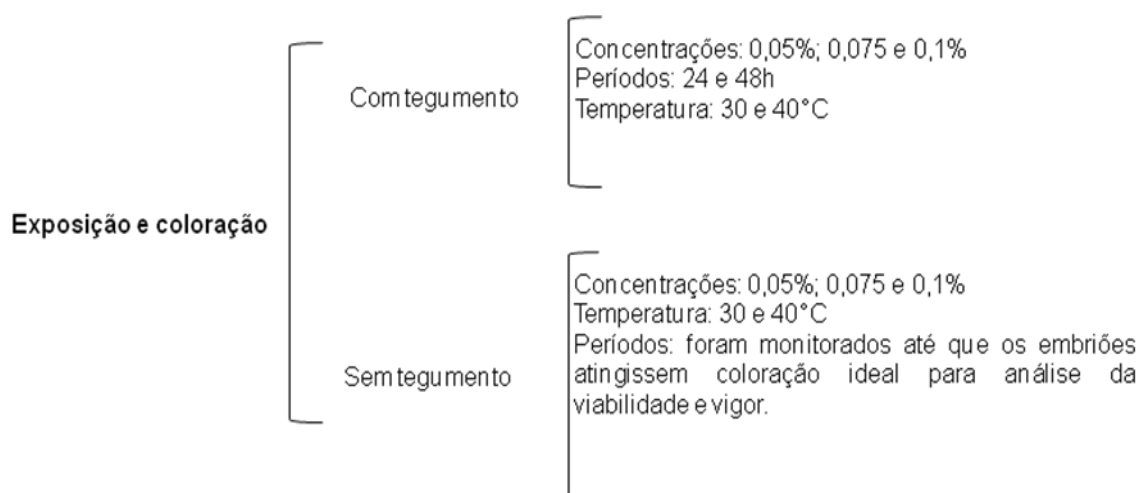


Figura 2. Diagrama dos procedimentos para a exposição dos tecidos e coloração das sementes de *Schizolobium parahyba*.

Determinou-se a viabilidade dos métodos conforme a facilidade de remoção do tegumento, considerando sementes viáveis e inviáveis, sendo que se considera como inviável a semente em que a extração do tegumento não foi possível de ser executada ou que apresentava danos visíveis no embrião devido

à dificuldade na extração. Além de realizar uma avaliação criteriosa para verificar se as formas de preparo estudadas provocaram danos ao embrião, computou-se nesta etapa o tempo gasto para realização do preparo da amostra (100 sementes) antes da coloração.

3.2.2.3 Coloração das sementes

Com a determinação do método mais adequado para o pré-umedecimento e exposição dos embriões, testou-se diferentes períodos, concentrações de TZ (0,05; 0,075 e 0,1%) e temperaturas para coloração das sementes (30 e 40°C). Os períodos para que os embriões colorissem foram monitorados até que os mesmos atingissem coloração ideal para análise da viabilidade e vigor. Utilizou-se para cada lote duas repetições de 50 sementes, sendo as mesmas completamente cobertas com solução de TZ e mantidas em estufas no escuro para evitar a redução do sal de TZ. Ao final dos períodos de coloração, a solução foi descartada e as sementes lavadas em água corrente e mantidas submersas até o final da avaliação para evitar o ressecamento.

A segunda etapa do presente trabalho foi realizar estimativa da viabilidade e do vigor das sementes pelo teste de TZ, empregando-se três lotes de sementes. Para esta avaliação utilizou-se os critérios estabelecidos para o teste de tetrazólio (DELOUCHE et al., 1976; FRANÇA NETO, 1999): vermelho-brilhante ou rosa (tecido vivo e vigoroso); vermelho-carmim forte (tecido deteriorado); branco-leitoso ou amarelado (tecido morto) e de acordo com a área em que ocorreu a coloração.

3.2.3 Teste de germinação

Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes, em cada lote, as quais foram escarificadas com auxílio de um esmeril, onde atritou-se levemente na região oposta da micrópila até expor o cotilédone, e tratadas com fungicida Captan® (240 g/100 kg). Utilizou-se bandejas com substrato areia (entre areia), sendo esta lavada, peneirada e autoclavada a 120°C por 50 minutos, seguindo as Instruções para Análises de Sementes de Espécies Florestais (BRASIL, 2013). O teste foi conduzido em câmara de germinação do tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*), com controle de temperatura constante de 30°C e fotoperíodo 8 horas

de luz. O substrato foi umedecido de acordo com Instruções para Análises de Sementes de Espécies Florestais (BRASIL, 2013) e sempre que necessário era realizado o reumedecimento. As avaliações foram realizadas em 10 dias após a semeadura, considerando-se como germinadas as sementes que originaram plântulas normais, ou seja, formado todas as estruturas essenciais do embrião (BRASIL, 2013). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

3.2.4 Delineamento estatístico

Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado. Verificou-se a normalidade dos dados para determinar a necessidade de transformação dos mesmos. Os resultados obtidos nos testes de germinação e tetrazólio (viabilidade), para cada lote, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas através do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados obtidos para a determinação das classes no teste de tetrazólio foram transformados em $(\arccos \sqrt{x/100})$ e analisados em esquema fatorial 3x3 (três lotes x três classes) seguida de análise de variância, onde as médias foram comparadas através do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Realizaram-se as análises com o programa ASSISTAT 7.7 Beta (2014).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para padronização do teste de tetrazólio das sementes de *Schizolobium parahyba* o procedimento inicial foi averiguar se havia a necessidade de pré-umedecimento das sementes. Neste sentido, as sementes de *S. parahyba* (intactas e com escarificação mecânica) foram imersas diretamente em solução de tetrazólio (TZ) nas concentrações de 0,05; 0,075 e 0,1%, por 24 e 48 h, nas temperaturas de 30°C e 40°C e o que se verificou é que as mesmas absorveram a solução de TZ numa quantidade mínima, limitando-se à região da escarificação, independentemente das concentrações da solução de TZ e do tempo de exposição estabelecido. Isto de fato comprova a necessidade de pré-umedecimento. As sementes de algumas espécies necessitam de hidratação prévia, antes de serem expostas à solução de tetrazólio, de forma que ocorra o amolecimento e a ativação do sistema enzimático, permitindo a penetração da solução e o desenvolvimento de coloração uniforme para a interpretação da sua viabilidade (MARCOS FILHO, 1987; AZERÊDO et al., 2011).

Para facilitar a absorção da solução de tetrazólio, um pré-umedecimento é necessário para algumas espécies e altamente recomendado para outras, além de que se o envoltório da semente impedir a embebição, ele deverá ser submetido a uma perfuração ou escarificação se o envoltório impedir a embebição (BRASIL, 2009). Portanto, para testar essa hipótese as sementes de *S. parahyba*, após comprovação da necessidade de hidratação, foram submetidas aos procedimentos de embebição em papel toalha e diretamente em água, com sementes escarificadas, por 24 e 48 h.

Após submetidas a estas condições de pré-condicionamento as sementes foram imersas em solução de TZ (0,05; 0,075 e 0,1%), nas temperaturas de 30°C e 40°C, mas o que verificou-se é que as sementes submetidas apenas a hidratação, sem remoção do tegumento, não colorem adequadamente, independente da concentração da solução de TZ e do período de coloração. Em geral, a solução de TZ não penetrou uniformemente nos tecidos das sementes, concentrando-se na região da escarificação, não apresentaram coloração na região central do tecido de reserva e no eixo embrionário, colorindo-se apenas nas extremidades das sementes. Este impedimento à coloração deve-se à

espessura do tegumento e adicionalmente à presença do endosperma, que se torna mucilaginoso em contato com a água.

Muitas sementes de espécies da família Fabaceae apresentam o tegumento impermeável à água, o que dificulta a penetração da solução de tetrazólio durante o teste e determinam a necessidade de sua remoção para que a coloração das sementes ocorra uniformemente, conforme observado em sementes de *Pterodon pubescens* Benth. (FERREIRA et al., 2001), *Peltophorum dubium* (OLIVEIRA et al., 2005), *Poecilanthe parviflora* Benth. (PINTO et al., 2008), *Clitorea ternatea* (DEMINICS et al., 2009), *Amburana cearensis* (All.) A. C. Smith. (GUEDES et al., 2010), *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit (COSTA e SANTOS, 2010) e *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. (PINHO et al., 2011).

Já que as sementes escarificadas e hidratadas não coloriram, então os tegumentos deveriam ser extraídos. Entretanto, o tratamento de embebição em papel toalha não é viável como método de pré-umedecimento, independente da temperatura (25 e 35°C) e período de embebição (24 e 48 h), uma vez que o tegumento permaneceu duro e, com isso foi preciso descascar grande parte das sementes, quase na sua totalidade (Tabela 1; Figura 3 C e D).



Figura 3. Sementes de *Schizolobium parahyba* após os tratamentos de pré-umedecimento. A - Embebição em água por 48 h; B - Embebição em água por 24 h; C - Embebição em papel toalha por 48 h; D - Embebição em papel toalha por 24 h.

Na embebição em papel toalha registrou-se apenas um número de 5 e 8 sementes em que foi possível extrair os tegumentos, quando submetidas as temperaturas de 25 e 35°C, respectivamente (Tabela 1). A extração do tegumento foi realizada manualmente, auxiliada com o uso de pinça, e quando não hidratado provocou inúmeros ferimentos e danos nos cotilédones das sementes, principalmente na região do eixo-embriônico, mascarando os resultados. Além disso, em papel toalha a 35°C foi possível observar o surgimento de fungos, os quais podem afetar diretamente na viabilidade das sementes. Moore (1977) menciona que os tecidos do embrião devem ser hidratados a fim de facilitar o preparo e a absorção da solução de tetrazólio, resultando em coloração mais nítida e, além disso, a absorção de água deve ser lenta pra evitar a ocorrência de trincas nas sementes ou a lixiviação de substâncias solúveis, especialmente nas deterioradas. Todavia, para as sementes de *S. parahyba* a embebição lenta é ineficiente e morosa. Contrariamente ao registrado para *S. parahyba* no presente trabalho, recomenda-se para sementes *Gleditschia amorphoides* Taub. a escarificação e embebição em papel toalha por 48 h a 25°C, com posterior retirada do tegumento (FOGAÇA et al., 2006).

Tabela 1. Número total de sementes de *Schizolobium parahyba* em que foi possível a remoção do tegumento após serem submetidas a diferentes métodos de pré-umedecimento.

Período (h)	25°C		35°C	
	Papel toalha	Água	Papel toalha	Água
24	0	25	0	35
48	2	100	8	100

No presente trabalho a imersão das sementes em água a 25°C, por 48 h, facilitou a remoção do tegumento, sendo, portanto o mais recomendado para o pré-condicionamento das sementes de *S. parahyba* (Tabela 1; Figura 3A). Embora a imersão das sementes em água a 35°C, por 48 h tenha permitido a remoção dos tegumentos, este método não é viável devido ao alto índice de danos por embebição (dados não apresentados), na região da escarificação, o

que mascara os resultados (Figura 4 C, D e E). Estes danos devem-se a embebição muito rápida que a temperatura de 35°C provoca nos tecidos. Fogaça et al. (2011), trabalhando com a espécie em estudo, determinou como melhor procedimento a embebição em água destilada por 48 h a 35°C, porém, não relata se houve danos causados no período de embebição.

Deve-se ressaltar a ocorrência de danos na região próxima a escarificação, provocados pela rápida embebição (48 h/25°C) (Figura 4 A e B). Assim, a análise deve ser criteriosamente realizada para diferenciar os danos causados pela realização da escarificação e embebição, e danos inerentes à semente, impedindo que o analista seja levado a erros de interpretação.

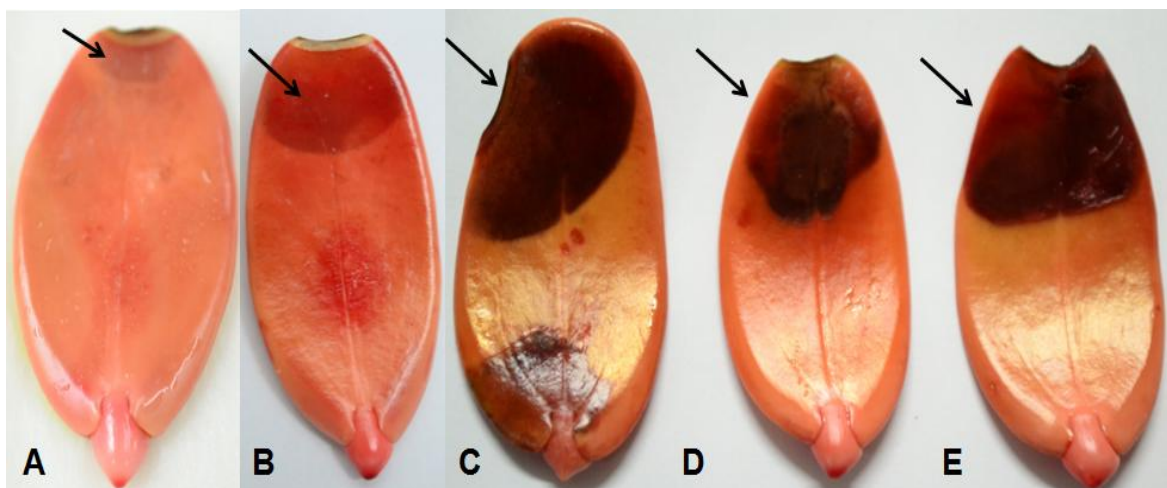


Figura 4. Embrião das sementes de *Schizolobium parahyba* com danos na região da escarificação, provocados pela embebição por imersão em água, a 25°C (A e B) e a 35°C (C, D e E).

O pré-umedecimento de algumas espécies florestais da família Leguminosae já foi estabelecido. Para sementes de *Peltophorum dubium* (OLIVEIRA et al., 2005), de *Clitorea ternatea* L. (DEMINICS et al., 2009), *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. (PINHO et al., 2011), respectivamente, também é recomendado a escarificação das sementes e posterior pré-condicionamento com imersão em água (14 h), a 25°C. Para sementes de *Amburana cearensis* (All.) A.C. Smith. também recomenda-se a escarificação das sementes e posterior pré-condicionamento com imersão em água (24 h), a 35°C e posterior retirada total do tegumento (GUEDES et al., 2010). Para

sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit é indicado o corte lateral e imersão das sementes em água, a 30°C, por 1 h, com remoção do tegumento (COSTA e SANTOS, 2010).

Contabilizou-se o tempo necessário para realizar a retirada do tegumento das sementes submetidas aos diferentes métodos de pré-umedecimento e em síntese recomenda-se novamente o pré-umedecimento com imersão em água (48 h/25°C) por proporcionar vantagens em relação ao tempo de preparo (± 1 h).

Para a coloração das sementes, a combinação entre concentração da solução de TZ e período que permitiu a obtenção dos melhores resultados, em termos de intensidade e uniformidade, foi a concentração da solução de TZ a 0,075%, o período de coloração de 2 h, na temperatura de 40°C (Tabela 2). Com relação à coloração das sementes na concentração de 0,05%, a redução da concentração não prejudicou sua uniformização, sendo necessário apenas 1 h a mais para que as sementes atingissem a tonalidade adequada em relação à concentração de 0,075% que é recomendada. A concentração de 0,1%, embora permitisse a coloração mais rapidamente (30 minutos), quando comparada a 0,075%, deve ser desconsiderada já que há um gasto maior de sal, desnecessariamente, já que o intervalo de tempo é relativamente curto. Para recomendação de um teste de vigor deve-se considerar a obtenção de resultados rápidos e confiáveis em curto período de tempo (MENDONÇA et al., 2001) e baixo custo na execução (FRANÇA NETO, 1999).

Tabela 2. Períodos determinados para que as sementes de *Schizolobium parahyba* atingissem a coloração adequada, após imersão em solução de tetrazólio (TZ; 0,05%, 0,075% e 0,1%), na temperatura de 30°C e 40°C.

Temperatura (°C)	Concentração de TZ (%)		
	0,05	0,075	0,1
30	5 h	4 h	3 h
40	3 h	2 h	1 h 30min

Assim como a concentração, a temperatura de condicionamento também exerce importante influência sobre a coloração das sementes submetidas ao teste de TZ. Nota-se que com a elevação da temperatura de 30°C para 40°C a diferença na velocidade para que as sementes atingissem coloração adequada foi

de 2 h, tanto para concentração de 0,05% quanto para 0,075% do sal (Tabela 2). Marcos Filho (1987) menciona que a cada aumento de 5°C na temperatura ambiente duplica a velocidade de reação de coloração, até o limite de 45°C.

As sementes de *S. parahyba* também foram alvos de trabalhos do teste de TZ, mas os resultados obtidos contradizem com os encontrados no presente trabalho. Fogaça et al. (2011) recomendaram o uso de sementes escarificadas, imersas em água por 48 h a 35°C, com posterior retirada do tegumento e condicionadas em solução de TZ com concentração de 0,10% por 4 h a 35°C. Ferreira et al. (2007) sugeriram o uso de sementes imersas em água por 48 h, seguida de remoção dos tegumentos e imersas nas soluções de TZ a 0,05% por 5 horas a 30°C. Portanto, diante dos resultados obtidos e considerando-se que o fator tempo, aliado ao menor gasto do sal, que são características desejáveis na realização do teste de viabilidade de sementes para obtenção de resultados de análises em laboratório, recomenda-se, para sementes dessa espécie, a combinação de temperatura/concentração do sal de TZ de 40°C/0,075% por 2 h de exposição.

A definição das condições apropriadas para o preparo, pré-condicionamento e coloração das sementes é fundamental para a eficiência da avaliação da viabilidade e vigor das sementes no teste de tetrazólio (BHERING et al., 2005). Sendo assim, após finalizar a primeira etapa do trabalho (padronização do teste de TZ) deu-se início a segunda etapa, onde foi realizada a estimativa da viabilidade e do vigor das sementes pelo teste de TZ, empregando-se três lotes de sementes. Utilizando-se os critérios adotados por Delouche et al. (1976) e França Neto (1999), os lotes de sementes foram classificados em três classes de níveis de viabilidade e vigor :

Classe I - (viável e vigorosa): Embrião com coloração rosa suave e uniforme, interior dos cotilédones com coloração mais clara, tecidos com aspecto firme, com ausência total de lesão ou área de coloração mais intensa, amarelada ou esverdeada; sementes com estrias laterais, e por vezes centrais, de coloração vermelho intensa sobre os cotilédones na região proximal ao eixo embrionário (Figura 5).



Figura 5. Sementes de *Schizolobium parahyba* com padrões da classe I (viáveis e vigorosas). A - Embrião com coloração rosa suave e uniforme, tecidos com aspecto firme, com ausência total de lesão ou área de coloração mais intensa, amarelada ou esverdeada; B - sementes com estrias laterais, e por vezes centrais, de coloração vermelho intensa sobre os cotilédones na região proximal ao eixo embrionário.

Classe II - (viável e não vigorosa): Menos de 50% dos cotilédones danificados ou descoloridos (esverdeados) não afetando a região de ligação com o eixo-embrionário, demais regiões com coloração rosa claro e tecidos firmes; Sementes com manchas brancas e leitosas, típica de tecido morto, não comprometendo, porém a região vascular, de pelo menos, um dos cotilédones; O eixo embrionário deve apresentar-se viável; sementes com coloração amarelada (tecido morto) ou vermelho intensa (tecido em deterioração), na extremidade apical inferior do eixo hipocótilo-radícula, sem afetar o cilindro central; Também, são incluídas nesta categoria, desde que apresentem textura firme, sementes com coloração uniforme rosa forte ou vermelho suave na região central dos cotilédones, sem atingir a região de ligação do eixo embrionário (Figura 6).



Figura 6. A, B e C - Menos de 50% dos cotilédones danificados ou descoloridos não afetando a região de ligação com o eixo-embrionário, demais regiões com coloração rosa claro e tecidos firmes; C e D - Sementes com manchas brancas e leitosas, típica de tecido morto, não comprometendo, porém a região vascular, de pelo menos, um dos cotilédones; E - Eixo embrionário viável; sementes com coloração amarelada (tecido morto) ou vermelho intensa (tecido em deterioração), na extremidade apical inferior do eixo hipocótilo-radícula, sem afetar o cilindro central; F - Sementes com textura firme, coloração uniforme rosa forte ou vermelho suave na região central dos cotilédones, sem atingir a região de ligação do eixo embrionário.

Classe III - (Inviável): Tecidos mortos ou deteriorados numa extensão superior à metade dos tecidos de reserva cotiledonar; eixo embrionário com coloração vermelha escura em toda a sua extensão; embrião com deformações físicas (má-formação); eixo embrionário ou todo o embrião completamente descolorido ou amarelo leitoso, com tecidos flácidos (Figura 7).

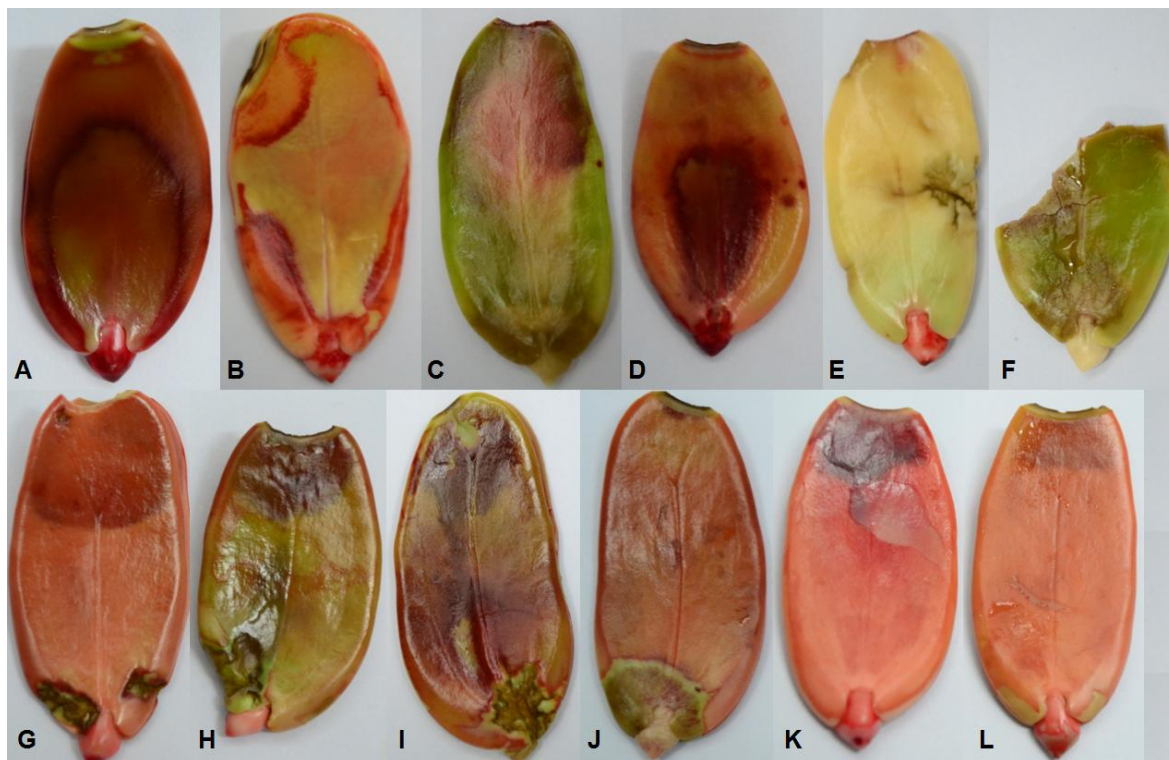


Figura 6. A - Tecidos mortos ou deteriorados numa extensão superior à metade dos tecidos de reserva cotiledonar, eixo embrionário com coloração vermelha escura em toda a sua extensão; B - Tecidos mortos ou deteriorados numa extensão superior à metade dos tecidos de reserva cotiledonar, eixo embrionário ou todo o embrião completamente descolorido ou amarelo leitoso, com tecidos flácidos; C, E, F, J, K e L - Eixo embrionário ou todo o embrião completamente descolorido ou amarelo leitoso, com tecidos flácidos; D - Eixo embrionário com coloração vermelha escura em toda a sua extensão; G, H e I - embrião com deformações físicas (má-formação).

Após a classificação foi possível determinar que dentre os lotes avaliados, o lote 3 apresentou maior número de sementes da classe I, ou seja, maior número de sementes viáveis e vigorosas (Tabela 3). Observa-se também que o número de sementes viáveis e não vigorosas (classe II) teve maior ocorrência no lote 2 e ao verificar as inviáveis (classe III), percebe-se que esta classe não diferiu estatisticamente entre os lotes.

Tabela 3. Valores médios (%) de sementes de *Schizolobium parahyba* viáveis e vigorosas (classe I), viáveis e não vigorosas (classe II) e inviáveis (classe III) determinados pelo teste de tetrazólio (TZ), em três lotes.

	Teste de Tetrazólio (TZ)		
	Classe I	Classe II	Classe III
Lote 1	45 abA	29 abB	31 aB
Lote 2	43 bA	34 aAB	27 aB
Lote 3	54 aA	23 bB	27 aB
CV (%)	9,26		

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Pelos resultados apresentados na Tabela 4, verifica-se que houve concordância entre a classificação obtida pelo teste de TZ, utilizando a metodologia proposta no presente estudo, com o teste de germinação. Destaca-se, portanto, o lote 3 com maior número de sementes viáveis pelo teste de germinação, porém, não se diferiu ao compararmos a viabilidade pelo teste de TZ (Tabela 4).

Tabela 4. Porcentagens médias do teste de germinação (TG), viabilidade (Classes I e II) pelo teste de tetrazólio (TZ), na avaliação da qualidade fisiológica em três lotes de sementes de *Schizolobium parahyba*.

	TG (%)	TZ (%)
Lote 1	64 b	74 a
Lote 2	68 b	79 a
Lote 3	91 a	80 a
CV (%)	10,57	7,65
r	0,73	

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com Ferreira et al. (2004), os resultados de viabilidade obtidos no teste de germinação e tetrazólio devem ser semelhantes, permitindo diferenças de até 5% entre ambos, entretanto, França Neto (1999) diz que a ocorrência de diferença superior a este valor, pode ser devido à amostragem,

presença de sementes dormentes na amostra, presença de elevado número de sementes com danos mecânicos e presença de fungos.

Pode se considerar que as classes de viabilidade definidas para o teste de tetrazólio, com base nos resultados para as sementes de *Schizolobium parahyba*, foram eficientes para a determinação da viabilidade desta espécie. Assim sendo, em caso de necessidade para se determinar mais rapidamente a viabilidade de sementes em análises laboratoriais recomenda-se o seu uso, uma vez que se obtêm resultados mais rápidos (em torno de 53 h) em relação aos testes de germinação (21 dias de acordo com Brasil (2013)).

O teste de tetrazólio por se tratar de um teste rápido e confiável na análise de sementes, fornecendo informações mais rapidamente que o teste de germinação, é recomendado para avaliação de várias espécies florestais, tais como: *Senna multijuga* (Rich.) Irwin et Barn com 30°C/0,075% com 5 h de exposição (FERREIRA et al., 2004); *Poecilanthe parviflora* Benth. com 30°C/0,1% com 2 h de exposição (VALADARES et al., 2009); *Hancornia speciosa* Gomes com 40°C/0,075% com 60-90 minutos de exposição (BARROS et al., 2010) e *Copaifera langsdorffii* com 35°C/0,2% com 4 h de exposição (FOGAÇA et al., 2011).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As atividades executadas no programa de estágio foram correspondidas pelos objetivos propostos. A realização do estágio demonstrou extrema importância para a formação pessoal e profissional do acadêmico, levando ao fato de poder focar em um trabalho científico, os conteúdos adquiridos durante a graduação.

Em relação à metodologia proposta para elaboração do teste de tetrazólio para *Schizolobium parahyba*, o melhor procedimento que deve ser realizado é com o pré-umedecimento das sementes escarificadas (lixadas) e imersas diretamente em água por 48 h, na temperatura de 25°C, para posterior retirada total do tegumento. E para atingir a coloração ideal, as sementes devem ser imersas em solução de tetrazólio a 0,075% por 2 h, a 40°C no escuro. O teste de tetrazólio mostrou-se uma alternativa para determinação da qualidade fisiológica de sementes desta espécie.

6. REFERÊNCIAS

- ABDO, M. T. V. N.; PIMENTA, R. S.; PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R. D. Testes de vigor para avaliação de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.27, n.1, p.195-198, 2005.
- AGUIAR SOBRINHO, J. Guapuruvu (*Schizolobium parahyba* (Vel.) Blake) uma espécie de rápido crescimento. **Revista Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, n. 3, p. 184-185, 1996.
- AZERÊDO, G. A.; PAULA, R. C.; VALERI, S. V. Viabilidade de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.3, n.1 p.61-68, 2011.
- AÑEZ, L. M. M.; COELHO, M. F. B.; ALBUQUERQUE, M. C. F.; MENDONÇA, E. A. F.; DOMBROSKI, J. L. D. Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira De Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.3, p.82-88, 2007.
- BARROS, D. I.; BRUNO, R. L. A.; NUNES, H. V.; BHERING, M. C. Teste de tetrazólio em sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). **Revista ACTA Tecnológica**, Areia, v.5, n.2, 2010.
- BHERING, M. C.; DIAS, D. C. F. S.; TOKUHISA, D.; DIAS, L. A. S. Avaliação do vigor de sementes de melão pelo teste de deterioração controlada. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.26, n.1, p.125-129, 2004.
- BHERING, M. C. DIAS, D. C. F. S.; BARROS, D. I. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas v.27, n.1, p. 176-182, 2005.
- BRASIL. **Lei nº10.711, de 5 de agosto de 2003**. Dispõe sobre o Sistema Nacional de Semente e Mudanças e da outras providências. Legislação Federal, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, 2009. 395p.
- BRASIL. **Lei nº12.651, de 25 de maio de 2012**. Dispõe sobre a proteção da vegetação nativa e dá outras providências. Legislação Federal, 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instruções para Análises de Sementes Florestais**. Brasília: MAPA, 2013.
- CANDIDO, J. F.; CONDÉ, A. R.; SILVA, R. F.; MARIA, J.; LÊDO, A. A. M. Estudo da causa da dormência em sementes de guarapuvu (*Schizolobium parahybum* (Vell.) Blake) e métodos para sua quebra. **Revista Árvore**, Viçosa, v.5 n.2, p.224-232, 1981.
- CARPANEZZI, A. A.; PEREIRA, J. C. D.; CARVALHO, P. E. R.; REIS, A.; VIEIRA, A. R. R.; ROTTA, E.; STURION, J. A.; RAUEN, M. J.; SILVEIRA, R. A. **Zoneamento ecológico para plantios florestais no estado de Santa Catarina**. Curitiba: EMBRAPA-CNPQ, 1988. 113 p. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 21).
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1995. 639p.
- CARVALHO. P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Embrapa Informação Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003. 1039p
- CARVALHO, P. E. C. **Circular Técnica 104 - Guapuruvu**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica; Colombo: EMBRAPA/CNPQ, 2005. v.1, 10p.

- COSTA, C. J.; SANTOS, C. P. Teste de tetrazólio em sementes de leucena. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, vol.32, n.2, pp. 66-72, 2010.
- DELOUCHE, J. C.; STILL, T. W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: Ministério da Agricultura, AGIPLAN, 1976.
- DEMINICIS, B. B.; VIEIRA, H. D.; SILVA, R. F. Teste de Tetrazólio para Avaliação da Qualidade de Sementes de *Clitoria ternatea* L. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n.2, p.054-062, 2009.
- DEMINICIS, B.; RODRIGUES, P. FARIA, B.; VIEIRA, H.; PANDOLFI FILHO, A.; FREITAS, G. Tetrazolium Test to Evaluate *Stizolobium aterrimum* Seeds Quality. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 1, p. 148-152, 2014
- FERREIRA, R. A.; VIEIRA, M. G. G. C.; PINHO, É. V. R. V.; TONETTI, O. A. O. Morfologia de sementes e plântulas e avaliação da viabilidade da semente de sucupira-branca (*Pterodon pubescens* Benth - Fabaceae) por meio do teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.21, n.1, p.108-115, 2001.
- FERREIRA, R. A.; DAVIDE, A. C.; MOTTA, M. S. Vigor e viabilidade de sementes de *Senna multijuga* (Rich.) Irwin et Barn. e *Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn., num banco de sementes em solo de viveiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.26, n.1, p.24-31, 2004.
- FERREIRA, R. A.; OLIVEIRA, L. M. de; 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**, Londrina, v. 29, n.3, p.83-89, 2007.
- FESSEL, S. A.; PANOBIANCO, M.; SOUZA, C. R.; VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica em sementes de soja armazenadas sob diferentes temperaturas. **Bragantia**, Campinas, v.69, n.1, p.207-214, 2010.
- FOGAÇA, C. A.; MALAVASI, M. M.; ZUCARELI, C.; MALAVASI, U. C. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28 n. 3, dez. 2006.
- FOGAÇA, C. A.; KROHN, N. G.; SOUZA, M. A.; PAULA, R. C de. Teste de Tetrazólio em sementes de *Copaifera langsdorffii* e *Schizolobium parahyba*. **Revista Floresta**, Curitiba, v.41, n.4, p.895-904, 2011.
- FRANÇA NETO, J. B. Teste de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRA TES, 1999. p.8.1-8.28.
- FREIRE, J. M.; COFFLER, R.; GONÇALVES, M. P. M.; SANTOS, A. L. F.; PIÑA RODRIGUES, F. C. M. Germinação e dormência de sementes entre e dentro de populações de guapuruvu (*Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake) oriundas dos municípios de Paraty e Miguel Pereira-RJ. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, n.5, p.168-170, 2007.
- FREIRE, J. M.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; LIMA, E. R. DE; SODRÉ, S. R. C.; CORRÊA, R. X. Estrutura genética de populações de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (guapuruvu) por meio de marcadores RAPD. **Revista Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.74, p27-35, 2007.
- GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; VIANA, J. S.; SILVA, K. B.; GOMES, M. S. S. Metodologia para teste de tetrazólio em sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A. C. Smith. **Revista Brasileira De Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.12, n.1, p.120-126, 2010.

- GOMES, J. M.; PAIVA, H. N. **Viveiros florestais: Propagação sexuada**. Viçosa: Editora UFV, 2011. 116p.
- LEME, M. C. J.; DURIGAN, M. E.; RAMOS, A. Avaliação do potencial forrageiro de espécies florestais. In: SEMINÁRIO SOBRE SISTEMAS AGROFLORESTAIS NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1., 1994, Colombo. **Anais**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1994. p. 147-156. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 26).
- MARCHIORI, J. N. C. **Dendrologia das angiospermas: leguminosas**. Santa Maria: Ed. da Universidade Federal de Santa Maria, 1997. 200 p.
- MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230 p
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.
- MATHEUS, M. T. & LOPES, J. C. Termoterapia em semente de Guarapuvú (*Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, n. 5, p.330-332, 2007.
- MENDES, A. M. S.; BASTOS, A. A.; MELO, M. G. G. de. Padronização do teste de tetrazólio em sementes de *Parkia velutina* Benoist (Leguminosae - Mimosoideae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 39, n.4, p.823-828, 2009.
- MENDONÇA, E. A. F.; RAMOS, N. P.; PAULA, R. C. Viabilidade de sementes de *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel (louro-pardo) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n.2, p.64-71, 2001.
- MOORE, R.P. **Tetrazolium testing handbook**. Raleigh: North Carolina State University, 1977.
- 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 Caesalpinoideae. **Revista Cerne**, Lavras, v.11, n.2, p.159-166, 2005.
- PINHO, D. S.; BORGES, E. E. L.; CARVALHO, A. P. V.; CORTE, V. B. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de angico. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.31, n.67, p.269-272, 2011.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; VALENTINI, S. R. T. Teste de tetrazólio. In: SILVA, A.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Coords.). **Manual de análise de sementes florestais**. São Paulo: Instituto Florestal, 1995. p.61-73.
- PINTO, T. L. F.; BRANCALION, P. H. S.; NOVEMBRE, A. D. L. C.; CÍCERO, S. M. Avaliação da viabilidade de sementes de coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora* Benth. - Fabaceae-faboideae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.30, n.1, p. 208-214, 2008.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 2º Ed.; 289 p.
- SANTOS, S. R. G.; PAULA, R. C. Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.37, n.81, p.7-16, 2009.
- VALADARES, J.; DE PAULA R. C.; F VITTI MÔRO, F.; Germinação, desenvolvimento de plântulas e teste de tetrazólio em *Poecilanthe parviflora* Benth (Fabaceae - Faboideae). **Revista Científica**, Jaboticabal, v.37, n.1, p.39 - 47, 2009.
- TORRES, S. B.; OLIVEIRA, F. N.; OLIVEIRA A. K.; BENEDITO, C. P.; MARINHO, J. C. Envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de melão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.27, n.1, p.70-75, 2009.

WIELEWICKI, A. P.; LEONHARDT, C.; SCHLINDWEIN, G.; MEDEIROS, A. C. S. Proposta de padrões de germinação e teor de água para sementes de algumas espécies florestais presentes na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.3, p. 191-197, 2006.

ZUCARELI, C.; MALAVASI, M. M.; FOGAÇA, C. A.; MALAVASI, V. C. Preparação e coloração de sementes de farinha-seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Bur.) para o teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.23, n.2, p.186-191, 2001.