

Subárea: 5.02.04 - Recursos Florestais e Engenharia Florestal / Tecnologia e Utilização de Produtos Florestais

ADEQUAÇÃO DA METODOLOGIA DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SABIÁ (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.)

Aristeia dos S. Farias¹, Lucas A. M. N. Lopes¹, Thaís S. Marques¹, Carlos L. da Silva¹, Brenda S. de O. Chavante², Cristian B. Silva², João C. A. Neto³

1. Estudantes de Engenharia Florestal e Agronomia do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (CECA/UFAL)
2. Estudantes da Pós-graduação (CECA/UFAL) / Coorientador
3. Professor do CECA/UFAL - Coord. do Laboratório de Propagação de Plantas/ Orientador

Resumo

Mimosa caesalpiniaefolia Benth. (Fabaceae), conhecida como sabiá é nativa da região Nordeste com uso em programas de recuperação de áreas degradadas. O teste de tetrazólio (Tz) tem se destacado para muitas espécies devido a sua rapidez em avaliar o vigor de sementes. Assim, o presente trabalho teve como objetivo padronizar o Tz em sementes de sabiá. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Propagação de Plantas do CECA/UFAL. As sementes foram obtidas de 30 matrizes de um fragmento de floresta nativa do campus e analisadas quanto ao teor de água e teste de germinação inicial. O Tz foi testado nas temperaturas de 30 e 35 °C, períodos de embebição de 1, 2 e 3 horas, nas concentrações de 0,05, 0,075 e 0,1% do sal do tetrazólio, depois, seccionadas ao meio para observar a coloração. O teste de tetrazólio é promissor para avaliação da viabilidade das sementes, adotando a técnica da hidratação entre papel por 24h a 25 °C e posterior remoção do tegumento e imersão das sementes em 0,075% de Tz à 35°C por 1h.

Palavras-chave: Testes rápidos, qualidade fisiológica, vigor.

Apoio financeiro: PIBIC UFAL/CNPq.

Trabalho selecionado para a JNIC: UFAL.

Introdução

Mimosa caesalpiniaefolia Benth, conhecida popularmente como sabiá, é uma espécie arbórea pertencente à família Fabaceae, nativa da região Nordeste do Brasil, pioneira, decídua, heliófila, xerófila (Bezerra et al, 2019; Lorenzi, 2008).

De grande importância econômica, a mesma possui vasta utilização na região nordeste, onde é utilizada como fonte de madeira, devido as suas características de densidade, resistência; como fonte alimentar de animais domésticos, devido ao alto valor nutritivo de suas folhagens para o gado; além disso, também é utilizada para recuperação de áreas degradadas, por possui boa adaptação aos mais diversos climas, bem como crescimento rápido (Santiago, 2001).

Devido a importância econômica, social e ecológica do sabiá, a espécie vem sendo cada vez mais estudada, como vistos em trabalhos de maturação, superação de dormência, testes de germinação. Salienta-se, porém, que o potencial fisiológico das sementes tem sido analisado, principalmente, pelo teste de germinação, sendo que este por ser conduzido em condições controladas pode vir a subestimar ou superestimar os resultados.

Desta forma, é indicado utilizar testes de vigor juntamente com o teste de germinação, pois estes são mais sensíveis e podem indicar com maior precisão se as sementes estão aptas a serem utilizadas ou descartadas. Dentre os testes de vigor utilizado, o de tetrazólio tem sido visto como um teste promissor, rápido e seguro. Este é usado com o sal 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio ou brometo de tetrazólio, o qual que reage com as enzimas das desidrogenases, indicando através de padrões colorimétricos o estágio de deterioração das sementes (França Neto et al, 1998). Salienta-se, porém, que a literatura científica não reporta adequação e/ou padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. Assim, o presente trabalho objetivou padronizar o teste de tetrazólio, uma vez que este teste é muito sensível e facilitará na avaliação do vigor de sementes, a fim de melhorar a comercialização das mesmas para produção de mudas, bem como facilitar as análises em laboratório.

Metodologia

Local: O trabalho foi conduzido no Laboratório de Propagação de Plantas do CECA/UFAL, localizado em Rio Largo/AL.

Obtenção das sementes: A coleta dos frutos foi realizada em fragmento de floresta nativa localizada no CECA, com classificação climática de Koppen tropical litorâneo úmido (As) (Carvalho et al, 2013). A colheita dos frutos maduros foi realizada de 30 matrizes com o auxílio de uma tesoura de poda aérea. Posteriormente foi realizado

extração das sementes.

Teor de água: O teor de água das sementes foi determinado pelo método de estufa conforme as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

Teste de germinação e primeira contagem: Para realização dos testes de germinação inicial e primeira contagem, foram realizadas de acordo com as instruções para Análise de Sementes de Espécies Florestais (Brasil, 2013).

Índice de velocidade de germinação: O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962), a partir de contagens diárias do número de plântulas normais do teste de germinação.

Comprimento de plântulas: As plântulas do final do teste de germinação foram medidas em parte aérea (PA), raiz (RZ) e total (CPL). Os resultados foram obtidos com auxílio de régua milimetrada pela soma das medidas na razão do número de sementes usadas no teste, sendo os resultados expressos em cm.plântula⁻¹.

Condutividade elétrica: Foram avaliados dois tratamentos, sendo pesadas quatro repetições de 25 sementes intactas para o primeiro e despontadas para o segundo. Em ambos os tratamentos as sementes foram desinfestadas seguindo recomendações de Brasil (2013) e em seguida utilizado o método proposto por Avelino et al. (2018).

Marcha de absorção de água: A partir do teste de germinação, a quantidade de água absorvida pelas sementes foi calculada realizando sucessivas pesagens, sendo a pesagem final realizada ao início da protrusão da raiz primária, cujo resultado foi expresso em porcentagem de teor de água em cada período de absorção.

Pré-condicionamento e TTz: Após 24 horas do início do teste de germinação, procedeu-se a retirada do tegumento da semente com lâmina de bisturi. Em seguida, as sementes sem tegumento foram pré-condicionadas em copos descartáveis, deixando-as submersas nas soluções de tetrazólio (0,075, 0,05, 0,1%) e incubadas à 30 e 35°C na ausência de luz pelos períodos de 1, 2 e 3 horas. Passado cada período, as sementes foram lavadas em água corrente e seccionadas entre os cotilédones com uma lâmina, sendo feita a classificação colorimétrica das sementes, conforme França Neto et al. (1998), considerando: tecidos vermelho brilhante (vivo e vigoroso); II - vermelho escuro (deteriorado); III - branco leitoso (morto). A viabilidade foi expressa em porcentagem de sementes viáveis.

Análise estatística: Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 3 (período de embebição x período de coloração) +1 (controle). Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de *Tukey* e *Dunnnett* ($p \leq 0,05$) no Assistat.

Resultados e Discussão

Por ocasião da colheita, as sementes de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth., apresentaram teor de água de 9,8%. A determinação do teor de água é crucial para o armazenamento, pois ajuda na conservação das mesmas, uma vez que a atividade fisiológica da semente está totalmente ligada a este, podendo ter seu processo acelerado ou retardado (Araújo et al, 2013).

Constatou-se alta qualidade fisiológica nas sementes de sabiá após a colheita, indicadas pela alta porcentagem de germinação (96%), primeira contagem (95 %) e índice de velocidade de germinação (1,0735), com comprimento total da parte aérea e da raiz de, 13,03, 5,38 e 7,65cm.plântula⁻¹, respectivamente e 186,23 μ S.cm.g⁻¹ de lixiviados obtidos pelo teste de condutividade elétrica.

A partir da marcha de absorção de água, foi possível observar que as sementes escarificadas obedeceram ao padrão trifásico descrito por Bewley e Black (1994), onde partindo do teor de água de 9,8%, a fase I, caracterizada pela entrada de água nos tecidos da semente devido ao gradiente de potencial matricial entre a mesma e o meio externo foi alcançada rapidamente, estendendo-se até 11h, período esse em que as sementes atingiram 20,9% de água.

Na fase II, constatou-se duração de tempo um pouco maior, quando comparada a fase I e uma considerável desaceleração no ganho de água, mantendo-se estável até o seu final. Esta característica pode estar relacionada ao fato da maior parte da água necessária a ativação do metabolismo da semente ter sido absorvida durante a fase inicial, ocasionando esta diminuição durante a fase II. Esta fase é a mais longa no processo de absorção de água, uma vez que nesta fase, a semente absorve água mais lentamente, bem como se caracteriza mais por uma fase de mobilização das reservas que foram desdobradas nos tecidos de reserva para os tecidos meristemáticos (Bortolotto et al, 2008 *apud* Carvalho & Nakagawa, 2000).

A partir de 32 horas, iniciou-se a fase III, onde o aumento no conteúdo de água está associado à retomada do crescimento do embrião em virtude da necessidade de água pelas novas células em processo de formação da plântula, ocorrendo a protrusão da raiz primária, sendo uma das fases mais crítica no desenvolvimento da plântula, considerada irreversível.

As fases anteriores são conhecidas por dar início à ativação dos metabolismos e amolecimento do tegumento, facilitando o alcance da fase III pela semente com o rompimento de seu tegumento pela protrusão da raiz. Esta fase é irreversível, ou seja, uma vez iniciada é imprescindível a disponibilidade de água, pois o intenso processo de divisão celular é extremamente dependente de água (Bewley e Black, 1994).

Conforme observado por outros autores (Caseiro, Bennett e Marcos Filho, 2004), estabelecer o grau de umidade em que as sementes de sabiá atingiram durante as várias etapas da germinação revela-se de extrema importância para entender seu comportamento em relação a absorção de água na germinação. Este é responsável por causar alterações internas na semente, podendo por muitas vezes, auxiliar na penetração do sal de tetrazólio nos tecidos e contribuir significativamente para o amolecimento das partes, contribuindo na

remoção do tegumento e realização de cortes quando necessário (Bhéring et al., 1996).

Para a adequação do teste de tetrazólio observou-se que as sementes imersas na concentração de 0,05% associada a uma temperatura de 35°C (Tabela 1), não foi eficiente em diferenciar sementes vigorosas e não vigorosas, independente do tempo de exposição utilizado. Por sua vez, quando se utilizou a concentração de 0,075%, foi possível observar sementes com distintos níveis de vigor desde que sejam mantidos períodos de 1 e 2 horas de imersão. Na concentração de 0,1%, este ranqueamento pode ser obtido em 1 hora de imersão.

Na temperatura de incubação de 30°C, (Tabela 1), constatou-se que os períodos de 1 e 2 horas não foram suficiente para ranquear os lotes independente das concentrações utilizadas. No entanto, para o período de 3 horas, associado a concentração de 0,05%, foi possível identificar sementes com distintos níveis de vigor.

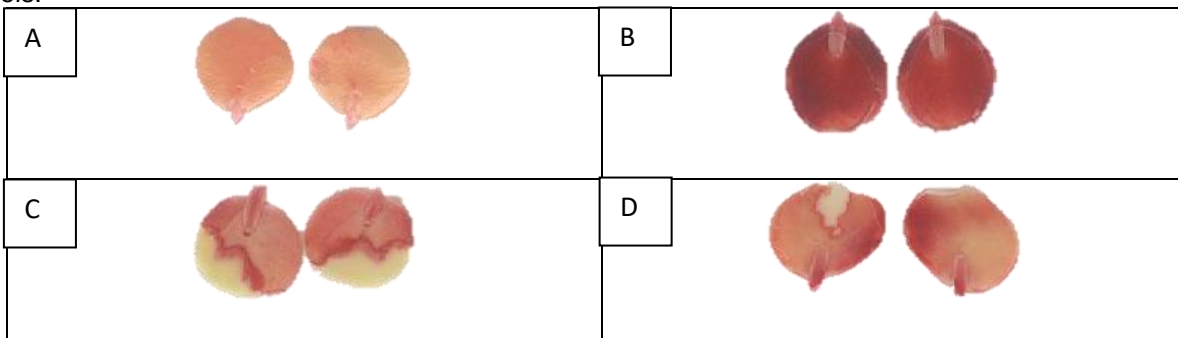
Tabela 1. Viabilidade das sementes de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. pelo teste de tetrazólio (Tz) realizado em diferentes concentrações e períodos sob temperatura de 30 e 35°C.

Temperatura 35°C			
Período (h)	Concentração de Tz (%)		
	0,05*	0,075	0,1
1	50 bBy	82 aAx	84 aAx
2	64 aBy	79 aAx	72 abBy
3	68 aBy	54 bCy	61 cCy
Testemunha (%)	92 x		
C.V. (%)	11,92		
Temperatura 30°C			
Período (h)	Concentração de Tz (%)		
	0,05*	0,075	0,1
1	18 cDy	14 cDy	12 cDy
2	80 aAy	39 cCy	79 aAy
3	81 aAx	80 aBy	69 bBy
Testemunha (%)	92 x		
C.V. (%)	12,29		

(*) Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste *Tukey* ($p \leq 0,05$). Médias seguidas por uma mesma letra (x, y), entre germinação (testemunha – teste de germinação) e viabilidade obtida no teste de tetrazólio não diferem significativamente entre si pelo teste *Dunnnett* ($p \leq 0,05$).

A viabilidade das sementes foi analisada de acordo com sua coloração, seguindo a classificação proposta por França Neto (1998) (Figura 1).

Figura 1. Sementes de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth., classificadas de acordo com a coloração através do teste de tetrazólio. (A) Sementes de coloração vermelho claro: sementes viáveis; (B) Sementes de coloração vermelho intenso: sementes inviáveis; (C) Sementes apresentando > 50% de tecido vermelho intenso: sementes inviáveis; (D) Sementes com > 50% de coloração vermelho intenso áreas branco-leitoso: sementes inviáveis.



Sementes com um vermelho carmim claro foram consideradas sementes viáveis, pois o vermelho claro é um indicativo de que há respiração celular normal. Todavia, um vermelho intenso indica que o tecido está em deterioração, pela intensa ação das enzimas desidrogenases. Um tecido branco-leitoso indica que não há ação respiratória, ou seja, o tecido está morto e estas foram consideradas inviáveis (França Neto et al, 1998)

Conclusões

O teste de tetrazólio é eficiente na averiguação do vigor e da viabilidade de sementes de *Mimosa caesalpinifolia* Benth.

Para a condução do teste, faz-se necessário efetuar o desponte, seguido de hidratação entre substrato de papel por 24h (ou até alcançar 25% de teor de água) à 25°C e posterior remoção do tegumento.

A viabilidade das sementes de sabiá pode ser avaliada utilizando a concentração de 0,075% de tetrazólio à 35°C durante uma hora de imersão no sal.

Referências bibliográficas

ARAÚJO, A. V.; PINTO, M. A. D. S. C.; BARBOZA, V. R. S.; BRITO, A. C. V.; NUNES, A. S. Determinação do teor de água em sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. XIII JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX 2013 – UFRPE: Recife, 09 a 13 de dezembro de 2013.

AVELINO, M. S. A.; FRANCIVAL, C. F.; KATIANE, R. G. S.; FERNANDO, S. A.; MAURO, V. P. Testes bioquímicos de integridade de membranas na avaliação do vigor de sementes de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. Revista de Ciências Agrárias, 2018, 41(1): 100-108.

BEZERRA, A. C.; BARBOSA, L. S.; ZUZA, J. F. C.; AZEVEDO, C. F. Fisiologia e vigor de sementes de *Mimosa caesalpinifolia* Benth em condições de estresse hídrico. Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS), v.9, n.1, p.41-46, março, 2019.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. Seeds: Physiology of Development and Germination. Springer Science + Business Media New York 1994.

BHÉRING, M.C.; SILVA, R.F.; ALVARENGA, E.M.; DIAS, D.N.F.S.; PENA, M.F. Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio. Boletim Técnico UFV. Viçosa, 1996. 27p.

BORTOLOTTI, R. P.; MENEZES, N. L.; GARCIA, D. C.; MATTIONI, N. M. Comportamento de hidratação e qualidade fisiológica das sementes de arroz Bragantia: revista de ciências agrônômicas, Vol. 67, Núm. 4, outubro-diciembre, 2008, pp. 991-996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instruções para análise de sementes de espécies florestais. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2013.

CARVALHO, A. L.; SOUZA, J. L.; LYRA, G. B.; SILVA, E. C. Estação chuvosa e de cultivo para a região de Rio Largo, Alagoas baseada em métodos diretos e sua relação com o *El Niño* - Oscilação Sul. Revista Brasileira de Meteorologia. vol.28. N 2. São Paulo, junho de 2013.

CARVALHO, N.M. & NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CASEIRO, R.; BENNETT, M. A.; MARCOS FILHO, J. Comparison of three priming techniques for onion seed lots differing in initial seed quality. Seed Science and Technology, Volume 32, Number 2, July 2004, pp. 365-375(11).

FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. da. O teste de tetrazólio em sementes de soja. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1998. 72p. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 116).

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 5.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. v.1. 368p.

SANTIAGO, A. M. P.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; LOPES, E. C. Crescimento de plantas jovens de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth., cultivadas sob estresse hídrico. Revista Ecosistema. Vol 26, n 1, Jan-Jul 2001.