

### **PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA SEMENTES DE *Enterolobium timbouva***

Matheus Favaro Moreira<sup>1\*</sup>, Maria Elessandra Rodrigues Araujo<sup>2</sup>, Andreza Pereira Mendonça<sup>3</sup>, Laryssa Loren Tiburço<sup>4</sup>, Thiago Iida<sup>5</sup>

1. Graduando de Engenharia Florestal do Instituto Federal de Rondônia.
2. Docente do Instituto Federal de Rondônia / Orientadora.
3. Docente do curso Técnico em Florestas do Instituto Federal de Rondônia / Co-orientadora.
4. Técnica Florestal pelo Instituto Federal de Rondônia.
5. Discente do curso Técnico em Florestas do Instituto Federal de Rondônia.

#### **Resumo:**

*Enterolobium timbouva* tem um viés econômico de vasto emprego, entretanto, pesquisas com teste de viabilidade são raras. Assim, o objetivo deste é padronização do teste de tetrazólio da espécie de *Enterolobium timbouva*. A padronização foi realizada nos laboratórios de sementes e de biologia do Instituto Federal de Rondônia - Campus Ji-paraná. Avaliou-se o teste comparando os resultados destes com a sua germinação. O delineamento experimental utilizado nas diferentes etapas foi inteiramente casualizado. Aplicou-se o software ASSISTAT e as médias, após análise de variância, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Comparando-se os tratamentos (concentração e períodos) com a germinação, verificou-se diferença significativa em que os valores de viabilidade foram inferiores aos de germinação. O valor mais próximo à taxa de germinação (98%) obteve-se na solução a concentração de 0,01% por 8 horas (75%), mostrando-se ineficiência na avaliação da viabilidade da espécie.

**Palavras-chave:** Silvicultura; Germinação; Viabilidade.

**Apoio financeiro:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia (IFRO) Edital 04/2016.

#### **Introdução:**

A *Enterolobium timbouva*, pertencente à família Mimosaceae tem sua ocorrência bem distribuída pelo país, sendo conhecida por Orelhão, Orelha de Macaco entre outros, a mesma tem sua classificação como uma espécie pioneira, seu desenvolvimento acelerado e algumas características físicas da madeira influência no viés econômico da espécie em regiões nacionais, na interação dos sistemas agropecuários ao sombreamento, a mesma proporciona conforto térmico aos animais, proteção do solo contra a erosão, lixiviação e diminuição da fertilização a base nitrogenadas devido à fixação biológica de nitrogênio através da associação bacteriológica a esses vegetais (BALIEIRO *et. al.*, 2004).

Nos últimos anos vem crescendo o interesse de pesquisadores por mecanismos de propagação e sobrevivência de espécies florestais nativas do Brasil, tanto para possibilitá-lo o conhecimento do comportamento das espécies em condições naturais como para produção de mudas. Estudos do comportamento germinativo de suas sementes tornam-se fundamentais para elucidar tais questões.

A determinação rápida do potencial fisiológico das sementes é fundamental para que as empresas utilizem seus recursos de forma racional na tomada de decisão quanto ao armazenamento e à comercialização do produto (TEKRONY, 2003; CARVALHO *et al.*, 2009).

Neste contexto o teste de tetrazólio é uma alternativa viável pela qualidade e rapidez na definição da viabilidade e do vigor das sementes. O teste baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases, que reduz o sal de tetrazólio nos tecidos vivos, onde os íons de H<sup>+</sup> são transferidos para o referido sal formando um composto não difusível, conhecido como trifetilformazan, indicando à atividade respiratória mitocondrial e, consequentemente que o tecido é viável (FRANÇA NETO *et al.*, 1999). O teste de tetrazólio destaca-se, pois além de avaliar a viabilidade e o vigor, permite em alguns casos a identificação de influentes na qualidade das sementes como danos mecânicos e os causados pela secagem, por insetos e deterioração por umidade (BHÉRING *et al.*, 1996; FRANÇA NETO, 1999).

Assim pesquisas são desenvolvidas tentando abreviar o prazo para obtenção dos resultados do teste de tetrazólio, a partir de metodologia específica para cada espécie (NASCIMENTO e CARVALHO, 1998). Deste modo, o trabalho tem como objetivo a padronização do teste de tetrazólio da espécie de *Enterolobium timbouva*.

#### **Metodologia:**

Esta Pesquisa conduziu-se no laboratório de análises de sementes e Laboratório de Biologia do Instituto Federal de Rondônia - Campus Ji-paraná. Utilizou-se sementes de orelhão coletadas em áreas circunvizinhas ao município de Ji-paraná. Para avaliação da germinação e desenvolvimento do teste de tetrazólio, as sementes foram submetidas inicialmente a superação da dormência tegumentar com desponte da parte posterior do embrião.

**Germinação:** Este teste foi avaliado em 200 sementes por tratamento, distribuídas em quatro repetições de 50 sementes. A porcentagem de germinação é determinada somando-se as sementes que germinaram na primeira contagem com as que germinaram na segunda contagem, realizada de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

**Padronização do teste de tetrazólio:** Para o estabelecimento dos procedimentos a serem adotados na condução do teste de tetrazólio em semente de *Enterolobium timbouva* foram previamente realizados diversos ensaios para se estabelecer o pré-condicionamento, a concentração da solução, o tempo e o período mais adequado.

**Número de sementes:** Pelas condições homogêneas que foram submetidas às sementes durante o seu preparo, foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento, quantas vezes forem necessárias para a caracterização completa da coloração, danos e demais detalhamentos.

**Pré-condicionamento das sementes:** Embebição em rolos de papel umedecidos (2,5 vezes o peso do papel) acondicionados em câmaras de germinação regulada a temperatura de 25°C, por 24 horas.

**Coloração das sementes:** Para o processo de coloração, utilizaram-se quatro repetições de 25 sementes. As quais foram acondicionadas em recipientes plásticos de 50 mL, adicionando-se a solução de 2,3,5 trifênil cloreto de tetrazólio (pH de 6,5 a 7,0) em três concentrações (0,05, 0,075 e 0,01%) durante os diferentes períodos. Uma vez expostas à solução para o desenvolvimento de coloração, as sementes foram mantidas em câmara tipo B. O. D. a 40°C, na ausência de luz. Após o período de coloração, as soluções foram drenadas e as sementes lavadas em água corrente, em seguida as mesmas foram mantidas em ambiente refrigerado imersas em água até o momento da avaliação.

**Interpretação do teste:** Analisou-se uma a uma, com auxílio de uma lupa de seis aumentos com lâmpada fluorescente para facilitar a interpretação, com visualização de todos os detalhes das sementes. A diferenciação de cores dos tecidos será observada de acordo com os critérios estabelecidos para o teste de tetrazólio (DELOUCHE et al., 1976; BHÉRING et al., 1999 e FRANÇA-NETO, 1999): vermelho brilhante ou rosa (tecido vivo e vigoroso); vermelho-carmim forte (tecido em deterioração) e branco leitoso ou amarelado (tecido morto).

**Procedimento estatístico:** O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado em quadruplicata. Utilizou-se o software ASSISTAT, Versão 7.7, e as médias, após análise de variância, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## Resultados e Discussão:

As sementes foram inicialmente submetidas ao tratamento de quebra de dormência (Desponte seguida de embebição por 24 horas em água), posteriormente foram embebidas entre papel germitest por 24 horas a 25 °C. Dentre os tratamentos de pré-condicionamento mais utilizados em sementes de espécies florestais estão a embebição entre papel (FOGAÇA et al., 2006; PINTO et al., 2008). Após o período de embebição as sementes foram imersas em solução de tetrazólio nas concentrações de 0,01, 0,05 e 0,075% por períodos de 2, 4, 8 e 12 horas na temperatura de 40 °C. A concentração da solução do sal de tetrazólio, a temperatura e o tempo de condicionamento e a avaliação adequada de coloração das sementes são fundamentais para que se obtenham resultados confiáveis sobre a qualidade das sementes.

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

As sementes submetidas aos diferentes tratamentos diferiram estatisticamente da germinação. Sendo recomendado que esta diferença seja inferior a 10% (FRANÇA NETO et al., 1999), observa-se que o resultado que mais se aproximou da porcentagem da germinação (testemunha – 95,7%) foi a concentração de 0,01 % no período de 8 horas (75,25%) em relação aos demais tratamentos obteve-se valores muito inferiores aos da germinação em que o valores variaram de 0 a 22 % de sementes viáveis (concentração 0,075% por 12h e 0,01% por 4h, respectivamente). Esta diferença de valores provavelmente deve-se ao processo de pré-embebição que foi insuficiente para hidratar as sementes, devido o tamanho dos cotilédones. O processo adequado de hidratação é de suma importância, uma vez que promove o amolecimento das mesmas facilitando o preparo e a penetração da solução de tetrazólio, bem como a ativação do sistema enzimático permitindo o desenvolvimento de coloração adequada para a interpretação da sua viabilidade.

**Tabela 1.** Resultado do teste de germinação (TG) e teste de tetrazólio em diversas concentrações, tempos e temperaturas em sementes de *Enterolobium timbouva*.

Germinação	95,7a
Tz 0,1/2h	3,50 e
Tz 0,1/4h	22,00 c
Tz 0,1/8h	75,25 b
Tz 0,05/2h	8,75 de
Tz 0,05/4h	17,00 cd
Tz 0,05/8h	1,75 e
Tz 0,075/2h	8,75 de
Tz 0,075%/8h	3,50 e

<b>Tz 0,075/12h/</b>	<b>0,00 e</b>
<b>CV(%)</b>	<b>18</b>

### Conclusões:

Infere-se, portanto, que a partir dos dados obtidos nesta pesquisa a padronização está diretamente ligada à pré-embebição que antecede o teste de tetrazólio, pois a viabilidade requerida através do teste de germinação não foi alcançada no teste de tetrazólio. Desta forma recomenda-se um desenvolvimento de trabalho que identifique um período adequado de embebição para as sementes de *Enterolobium timbouva*.

### Referências bibliográficas

- BALIEIRO, F. C. et al. Dinâmica da serapilheira e transferência de nitrogênio ao solo, em plantios de *Pseudosamanea guachapele* e *Eucalyptus grandis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.597-601, 2004.
- BHÉRING, M.C.; SILVA, R.F. da; ALVARENGA, E.M.; DIAS, D.C.F.S. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de feijão. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária - Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, DF.; 1992, 365p.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. v.1 Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo/PR: Embrapa Florestas, 2009. 1039 p.
- DELOUCHE, J.C.; STILL, T.W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103p.
- FRANCA-NETO, J.B. Testes de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, . p.1-7, 1999.
- FOGAÇA, Cristiane Alves et al. APLICAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DE *Gleditschia amorphoides* Taub. CAESALPINACEAE. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p.101-107, 2006.
- NASCIMENTO, W. M. O.; CARVALHO, N. M. Determinação da viabilidade de sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.) através do teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 470 - 474, 1998.
- PINTO, T.L.F.; BRANCALION, P.H.S.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CICERO, S.M. Avaliação da viabilidade de sementes de coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora* BENTH. - Fabaceae-Faboideae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.1, p.208-214, 2008.
- TEKRONY, D.M. Precision is an essential component in seed vigour testing. **Seed Science and Technology**, v.31, p.435-447, 2003.