JOURNAL OF EDUCATION, SCIENCE AND HEALTH – JESH
Revista de Educação, Ciência e Saúde
DOI: https://www.doi.org/10.52832/jesh.v5i3.717
Home page: https://bio10publicacao.com.br/jesh
e-ISSN: 2763-6119

PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA SEMENTES DE *Schizolobium parahyba*

PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA SEMENTES DE *Schizolobium arahyba*

ESTANDARIZACIÓN DE LA PRUEBA DE TETRAZOLIO PARA SEMILLAS DE *Schizolobium parahyba*

Roberta Sales Guedes[1]

Doutora em Agronomia, UFPB. Docente DE pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC.
*Autor correspondente: sementesufsc@gmail.com

Recebido: 05/07/2026 | **Aprovado**: 10/08/2026 | **Publicado**: 09/09/2026

Resumo: Objetivou-se estabelecer procedimentos de pré-umedecimento e coloração para padronização do teste de tetrazólio em sementes de *Schizolobium parahyba*. No pré-umedecimento utilizou-se 2 repetições de 50 sementes escarificadas com lixa nº80 na região oposta a micrópila e posteriormente imersas diretamente em água e submetidas à embebição em papel toalha por 24 e 48 horas à 25 e 35°C, respectivamente. Após a determinação do método de pré-umedecimento para retirada do tegumento e endosperma, os embriões foram submetidos à coloração em solução de tetrazólio nas concentrações de 0,050; 0,075 e 0,1% nas temperaturas de 30 e 40°C no escuro. O teste de germinação foi implantado em bandejas com substrato areia e em câmara de germinação a 30°C, por 10 dias. O pré-umedecimento em papel toalha é lento e ineficaz para hidratação da semente. Já o uso de sementes escarificadas e imersas diretamente em água por 48 horas a 35ºC, permitem a retirada total do tegumento e endosperma. A temperatura de 40 ºC acelerou a coloração de embriões, possibilitando avaliar a viabilidade das sementes em duas horas nas concentrações de 0,075 e 0,1%. Portanto, para padronização do teste de tetrazólio das sementes de *S. parahyba* recomenda-se o pré-umedecimento das sementes escarificadas e imersas diretamente em água por 48 horas, a 25°C, com posterior retirada total do tegumento e endosperma. Para coloração as sementes são imersas em solução de tetrazólio a 0,075% por 2 horas, a 40°C no escuro. O teste de tetrazólio mostrou-se eficiente para determinação da qualidade fisiológica de sementes desta espécie.

Palavras-chave: Coloração. Pré-umedecimento. Guarapuvu. Viabilidade

Abstract: The objective was to establish pre-wetting procedures and coloring to standardize the tetrazolium test in *Schizolobium parahyba* seeds. For the pre-wetting was used 2 replications of 50 seeds scarified with sandpaper #80 in the region opposite the micropyle and then immersed in water and directly submitted to the soaked paper towel for 24 to 48 hours at 25 to 35°C, respectively. After determining the pre-wetting method for removal of the seed coat and endosperm, embryos were stained with tetrazolium solution at concentrations of 0.050; 0.075 to 0.1% at temperatures of 30 to 40°C in the dark. The germination test was implemented in trays with sand in a growth chamber at 30°C for 10 days. The pre-wetting on paper towels is slow and inefficient to hydration in seed. But the use of scarified seeds directly and immersed in water for 48 hours at 35°C, allow the complete removal of the seed coat and endosperm. The temperature of 40°C accelerated staining of embryos, enabling the evaluation of the viability of the seeds in two hours at concentrations of 0.075 and 0.1%. Therefore, for standardization of the tetrazolium test seeds of *S. parahyba* recommended to pre-wetting the seeds directly scarified and immersed in water for 48 hours at 25°C, with subsequent complete removal of the seed coat and endosperm; For staining the seeds are immersed in tetrazolium solution to 0.075% for 2 hours at 40°C in the dark. The tetrazolium test was efficient to determine the physiological quality of seeds of this species.

Keywords: coloring. Garapuvu. Pre-wetting. Viability.

Resumen: El objetivo de este estudio fue establecer procedimientos de prehumedecimiento y coloración para la estandarización de la prueba de tetrazolio en semillas de *Schizolobium parahyba*. Para el prehumedecimiento se utilizaron dos repeticiones de 50 semillas escarificadas con papel de lija n.º 80 en la región opuesta al micrópilo y posteriormente sometidas a inmersión directa en agua o a imbibición en papel toalla durante 24 y 48 horas, a temperaturas de 25 y 35 °C, respectivamente. Tras determinar el método de prehumedecimiento adecuado para la remoción del tegumento y del endospermo, los embriones fueron sometidos a coloración en solución de tetrazolio a concentraciones de 0,050; 0,075 y 0,1

%, a temperaturas de 30 y 40 °C, en oscuridad. La prueba de germinación se realizó en bandejas con sustrato de arena y en cámara de germinación a 30 °C durante 10 días. El prehumedecimiento en papel toalla resultó lento e ineficaz para la hidratación de las semillas. En cambio, el uso de semillas escarificadas e inmersas directamente en agua durante 48 horas a 35 °C permitió la remoción total del tegumento y del endospermo. La temperatura de 40 °C aceleró la coloración de los embriones, posibilitando la evaluación de la viabilidad de las semillas en dos horas con las concentraciones de 0,075 y 0,1 %. Por lo tanto, para la estandarización de la prueba de tetrazolio en semillas de *S. parahyba*, se recomienda el prehumedecimiento de semillas escarificadas e inmersas directamente en agua durante 48 horas a 25 °C, seguido de la remoción total del tegumento y del endospermo. Para la coloración, las semillas deben ser sumergidas en una solución de tetrazolio al 0,075 % durante 2 horas, a 40 °C y en oscuridad. La prueba de tetrazolio demostró ser eficiente para determinar la calidad fisiológica de las semillas de esta especie.

Palabras clave: Coloración. Prehumedecimiento. Guarapuvú. viabilidad.

1 INTRODUÇÃO

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, 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 & Paiva, 2011). Portanto, não resta duvidas de que é essencial conhecer a qualidade fisiológica das sementes florestais, sendo esta determinada por meio de testes de viabilidade e vigor.

A espécie arbórea *Schizolobium parahyba,* pertencente a família Fabaceae-Caesalpinioideae, destaca-se pelo uso da madeira na construção civil, naval, de móveis, brinquedos, embalagens, entre outros; ademais, é registrado o uso na medicina popular, já que sua casca produz propriedades terapêuticas adstringentes (Carvalho, 2005). Além disso, a espécie é pioneira, de rápido crescimento, de ampla distribuição geográfica, com dispersão anemocórica e polinização por abelhas (Freire *et al.*, 2007).

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). 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 & Paula, 2009), *Hancornia speciosa* Gomes (Barros *et al.,* 2010), *Leucaena leucocephala* x *L. diversifolia* (Costa & Santos, 2010), *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg (Pinho et al., 2011), *Copaifera langsdorffii* (Fogaça *et al*., 2011), *Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy (Deminicis *et al*., 2014). 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 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados três lotes de sementes de *Schizolobium 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). Após a coleta, as sementes permaneceram armazenadas em condições ambiente.

2.1 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 quatro lotes de sementes; b) estimativa do vigor das sementes pelo teste de tetrazólio, empregando-se quatro lotes de sementes.

2.2 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 30ºC e 40ºC, por um período de 24 e 48 h. 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.

2.3 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 30ºC e 40ºC, 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. Também se procedeu com a extração do tegumento, os quais foram removidos manualmente com o auxílio de uma pinça, evitando-se danos aos embriões. 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.

2.4 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 40ºC). 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 coma 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.

2.5 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 Oxigen Demand*), com controle de temperatura constante de 30°C e fotoperíodo 8 horas de luz. O substrato foi umedecido de acordo com 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.

2.6 Delineamento estatístico

Os experimentos foram realizados em delineamento completamente casualizado (DCC). Verificou-se a homogeneidade das variâncias pelo Teste de Bartley para averiguar a necessidade de transformação dos dados. 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 (arcosen $\sqrt{x}/100$) 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 (Silva & Azevedo, 2009).

3 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 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, *Poecilanthe parviflora* Benth. (Pinto *et al.,* 2008), *Amburana cearensis* (All.) A. C. Smith. (Guedes et al., 2010), *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit (Costa & Santos, 2010), *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. (Pinho *et al.,* 2011), *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. (Nogueira *et al.,* 2014) e *Cassia leptophylla* Vogel. (Garlet *et al.,* 2015).

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).

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-embrionário, 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 25ºC, 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

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

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). 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. Estes danos se devem a embebição muita 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). 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.

O pré-umedecimento de algumas espécies florestais da família Leguminoseae já foi estabelecido. Para sementes de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. (Pinho et al., 2011) e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. (Nogueira et al., 2014) também é recomendado a escarificação das sementes e posterior pré-condicionamento com imersão em água por 14 e 24 horas a 25°C, respectivamente. 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 & 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

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

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 40ºC/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 1).

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 2).

Figura 1 – 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.



Fonte: Guedes (2021)

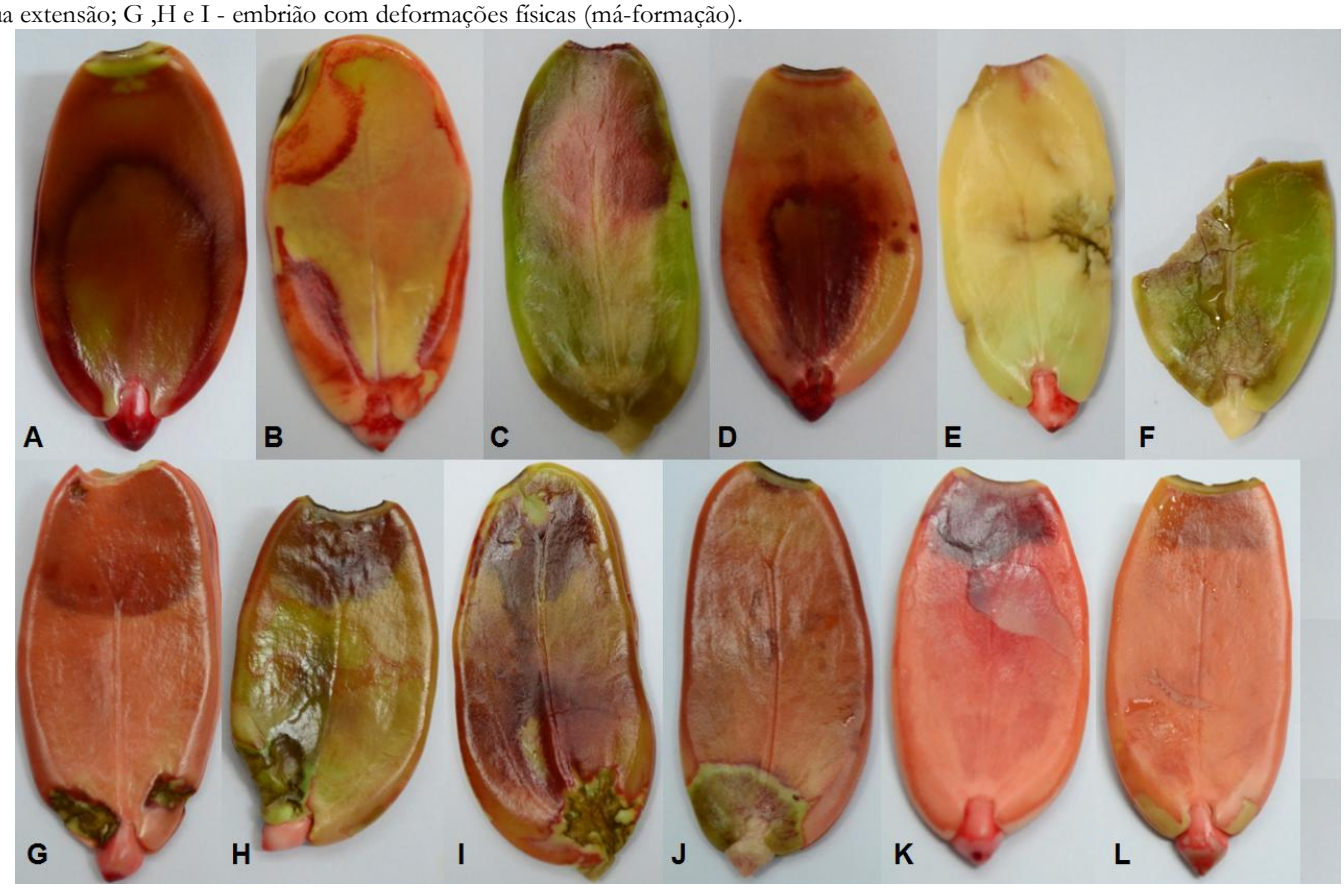
Figura 2 – Sementes de *Schizolobium parahyba* com padrões da classe II (viáveis e não vigorosas). A, B e C - Menos de 50% dos cotilédones danificados ou descoloridos não afetando a região de ligação com o eixo-embrionário, demais regiões com coloração rosa claro e tecidos firmes; C e D - Sementes com 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.



Fonte: Guedes (2021)

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 3).

Figura 3 - Sementes de *Schizolobium parahyba* com padrões da classe III (inviáveis). 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).



Fonte: Guedes (2021)

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

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

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).

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.

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	81 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.

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: *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), *Copaifera langsdorffii* com 35°C/0,2% com 4 h de exposição (Fogaça et al., 2011) e *Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy (Deminicis et al., 2014) com 25°C/1,0% com 150 minutos de exposição.

4 CONCLUSÃO OU CONSIDERAÇÕES FINAIS

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.

Conflitos de interesses

Os autores declaram que não há conflitos de interesse. Todos os autores estão cientes da submissão do artigo.

Contribuições dos autores

Conduzi o experimento e escrevi o artigo

REFERÊNCIAS

Azerêdo, G. A.; Paula, R. C. & Valeri, S. V. (2011). Viabilidade de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, 3, p.61-68.

Añez, L. M. M.; Coelho, M. F. B.; Albuquerque, M. C. F.; Mendonça, E. A. F. & Dombroski, J. L. D. (2007). Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). R*evista Brasileira De Plantas Medicinais*, 9, 82-88.

Barros, D. I.; Bruno, R. L. A.; Nunes, H. V.; & Bhering, M. C. (2010). Teste de tetrazólio em sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). *Revista ACTA Tecnológica*, 5.

Bhering, M. C. Dias, D. C. F. S. & Barros, D. I. (2005). Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. *Revista Brasileira de Sementes,* 27, 176-182.

Brasil. Lei n°10.711, de 5 de agosto de 2003. Dispõe sobre o Sistema Nacional de Semente e Mudas 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 n°12.651, 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.

Carvalho, P. E. C. Circular Técnica 104 - Guapuruvu. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica; Colombo: EMBRAP A/CNPF, 2005. 1, 10p.

Costa, C. J. & Santos, C. P. (2010). Teste de tetrazólio em sementes de leucena. *Revista Brasileira de Sementes*, 32, 66-72.

Delouche, J. C.; Still, T. W.; Raspet, M. & Lienhard, M. (1976) O teste de tetrazólio para viabilidade da semente. Brasília: Ministério da Agricultura, AGIPLAN.

Deminicis, B.; Rodrigues, P.; Faria, B.; Vieira, H.; Pandolfi Filho, A. & Freita s, G. (2014). Tetrazolium Test to Evaluate *Stizolobium aterrimum* Seeds Quality. *American Journal of Plant Sciences*, 5, 148-152.

Ferreira, R. A.; Davide, A. C. & Motta, M. S. (2004). 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*, 26, 24-31.

Ferreira, R. A.; Oliveira, L. M. de; Tonetti, O. A. O. & Davide, A. C. (2007) Comparação da viabilidade de Sementes de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake – Leguminosae Caesalpinioideae, pelos testes de germinação e tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, 29, 83-89.

Fogaça, C. A.; Malavasi, M. M.; Zucarelli, C. & Malavasi, U. C. (2006) Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. *Revista Brasileira de Sementes,* 28, 101-107, 2006.

Fogaça, C. A.; Krohn, N. G.; Souza, M. A. & Paula, R. C de. (2011). Teste de Tetrazólio em sementes de *Copaifera langsdorffii* e *Schizolobium parahyba. Revista Floresta*, 41(4), 895-904.

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. 8.1-8.28.

Freire, J. M.; Piña-Rodrigues, F. C. M.; Lima, E. R. DE; Sodré, S. R. C. & Corrêa, R. X. (2007) Estrutura genética de populações de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (guapuruvu) por meio de marcadores RAPD. *Revista Scientia Forestalis*, 74, 27-35.

Garlet, J; Souza, G. F. & Delazeri, P. (2015). Teste de Tetrazólio em Sementes de *Cassia leptophylla*. *Enciclopédia Biosfera*, 11, 1800-1808.

Guedes, R. S.; Alves, E. U.; Gonçalves, E. P.; Viana, J. S.; Silva, K. B. & Gomes, M. S. S. (2010). Metodologia para teste de tetrazólio em sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A. C. Smith. *Revista Brasileira De Plantas Medicinai*s, 12, 120-126.

Gomes, J. M.; Paiva, H. N. Viveiros florestais: Propagação sexuada. Viçosa:Editora UFV, 2011. 116p.

Marcos Filho, J.; Cícero, S. M. & Silva, W. R. (1987). Avaliação da qualidade das sementes. Piracicaba: FEALQ. 230 p

Mendes, A. M. S.; Bastos, A. A. & Melo, M. G. G. de. (2009). Padronização do teste de tetrazólio em sementes de *Parkia velutina* Benoist (Leguminosae - Mimosoideae). *Acta Amazônic*a, 39, 823-828.

Mendonça, E. A. F.; Ramos, N. P. & Paula, R. C. (2001). Viabilidade de sementes de *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel (louro-pardo) pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, 23, 64-71.

Moore, R.P. Tetrazolium testing handbook. Raleigh: North Carolina State University, 1977.

Nogueira, N. W.; Torres, S. B. & Freitas, R. M. O. de. (2014). Teste de tetrazólio em sementes de timbaúba. *Semina: Ciências Agrárias*, 35, 2967-2976.

Pinho, D. S.; Borges, E. E. L.; Carvalho, A. P. V. & Corte, V. B. (2011). Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de angico. *Pesquisa Florestal Brasileira*, 31, 269-272.

Pinto, T. L. F.; Brancalion, P. H. S.; Novembre, A. D. L. C. & Cícero, S. M. (2008). Avaliação da viabilidade de sementes de coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora* Benth. - Fabaceae-faboideae) pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes,* 30, 208-214.

Silva, F. de A. S. & Azevedo, C. A. V. de. (2009). Principal Components Analysis in the Software Assital-Statistical Attendance. In: World Congress on Computers in Agriculture, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers.

Santos, S. R. G. & Paula, R. C. (2009). Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs. *Scientia Forestalis,* 37, 7-16, 2009.

Valadares, J.; De Paula R. C. & Môro, F. V. (2009). Germinação, desenvolvimento de plântulas e teste de tetrazólio em *Poecilanthe parviflora* Bentham (Fabaceae - Faboideae). *Revista Científica*, 37, 39-47.