



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA
CAMPUS II – AREIA – PB

ADEQUAÇÃO DA METODOLOGIA DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA
SEMENTES DE *Aspidosperma pyrifolium* MART

Karialane da Silva Belarmino

Areia – PB
Novembro / 2012

**ADEQUAÇÃO DA METODOLOGIA DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA
SEMENTES DE *Aspidosperma pyrifolium* MART**

Karialane da Silva Belarmino

**ADEQUAÇÃO DA METODOLOGIA DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA
SEMENTES DE *Aspidosperma pyrifolium* MART**

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial
para obtenção do título de
Engenheira Agrônoma pelo Curso
de Agronomia da Universidade
Federal da Paraíba.**

ORIENTADORA: Riselane de Lucena Alcântara Bruno

CO-ORIENTADORA: Katiane da Rosa Gomes da Silva

Areia – PB

Novembro / 2012

Karialane da Silva Belarmino

**ADEQUAÇÃO DA METODOLOGIA DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA
SEMENTES DE *Aspidosperma pyrifolium* MART**

Trabalho de conclusão de curso aprovado pela Comissão Examinadora

em: ____/____/____

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Riselane de Lucena Alcântara Bruno

Orientadora – CCA/UFPB

Dra. Katiane da Rosa Gomes da Silva

Co-orientadora - CCA/UFPB

MSc. Cosmo Rufino de Lima

Examinador – CCA/UFPB

MSc. Lucicléia Mendes de Oliveira

Examinadora – CCA/UFPB

Areia – PB

Novembro / 2012

A Deus, pela dádiva da vida e por sua presença constante em meus dias, iluminando cada passo dado e me guiando sempre pelos caminhos do bem.

Aos Meus Pais!

A minha mãe, pelo seu amor incondicional, por ter me ensinado os valores da vida, me auxiliando em todos os momentos, por acreditar em mim e ser a razão de tudo que sou hoje.

Ao meu pai, que sempre me amou, me apoiou e incentivou meus estudos, estando ao meu lado em todos os momentos.

Com muito amor Dedico.

A minha família!

A minha mãe Janicleide da Silva Belarmino, obrigada por ser minha melhor amiga, pelo seu amor e carinho constantes, por ser um exemplo do respeito, da coragem, da sabedoria e da dedicação.

Ao meu pai José Belarmino da Silva Neto, obrigada por ser esse homem trabalhador que com sua experiência de vida soube administrar os desafios e construir uma família feliz, por estar sempre comigo, pelo seu carinho e amor.

A minha irmã Kaline Karla da Silva Belarmino, por ser minha companheira de todas as horas, pelas nossas conversas valiosas, pelos seus cuidados, sua prestatividade, sua alegria e seu amor.

Ao meu marido Robson de Lima Ramos, por ser tão especial, pelo seu amor e carinho, respeito e dedicação, pelo seu companheirismo e por me fazer tão feliz.

Ofereço.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido a vida e se fazer presente em todas as horas.

A minha família, que é meu porto seguro, minha razão de viver e a quem devo muito do que sou.

Agradeço a professora Dra. Riselane de Lucena Alcântara Bruno por acreditar em mim e me conceder a oportunidade de construir uma carreira profissional, por seus ensinamentos valiosos, pela compreensão, seu sorriso e carinho.

A Dra. Katiane da Rosa Gomes da Silva, pelos auxílios dados sempre que precisei, pelos seus cuidados e amizade sincera.

A Severino do Ramo Nascimento dos Santos, obrigada por estar sempre comigo na execução dos trabalhos, por se comportar como um verdadeiro amigo e prestar seu apoio sempre que precisei.

A Amanda Kelly Dias Bezerra, obrigada pelos momentos de alegria na execução dos trabalhos, pela sua prestatividade e por sua amizade acima de tudo.

A Givanildo Zildo da Silva, por ser um verdadeiro amigo durante todo o percurso acadêmico, pela sua sinceridade e por estar sempre disposto a me ajudar.

Ao estagiário José de Oliveira, pela sua disposição e apoio.

Aos doutorandos Cosmo Rufino e Joel Braga, os quais foram fundamentais na execução dos trabalhos e sempre prestaram seu auxílio quando necessário.

Ao Dr. Mauro Pacheco e Cibele Ferrari, pelo seu incentivo e ensinamentos.

A todos os professores que fazem parte do curso de Agronomia, pois cada um foi responsável por um tijolinho na construção da minha formação. Também aqueles do ensino fundamental e médio, os quais foram essenciais na obtenção dos meus conhecimentos e despertaram em mim o interesse pelo saber.

Aos amigos Fernando dos Santos e Izabela Thaís, pelos momentos de alegria e companheirismo a mim proporcionados.

A minha amiga de infância Ismênia Marayre, por estar sempre disposta a me ajudar e pela presença em todos os momentos prestando sua amizade e carinho.

Aos funcionários do Laboratório de Análise de Sementes, Antonio Alves, Rui Barbosa e Severino Francisco, pelo apoio e colaboração na realização dos trabalhos.

Obrigada a todos!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. A Caatinga.....	3
2.2. A espécie <i>Aspidosperma pyrifolium</i> Mart.....	4
2.3. Qualidade fisiológica de sementes.....	5
2.4. Teste de tetrazólio.....	6
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	7
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	9
5. CONCLUSÕES.....	15
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Padrão de coloração de embriões de *A. pyrifolium* submetidos à imersão em soluções de tetrazólio a 0,025; 0,050; 0,075 e 0,100%, por 30, 60, 90 e 120 minutos.....10

Tabela 2. Valores médios referentes ao teor de água (T.A.), porcentagem de germinação e emergência (G. e E.), primeira contagem de germinação e emergência (P.C.G. e P.C.E), índice de velocidade de germinação e emergência (I.V.G. e I.V.E.), comprimento de plântulas (C.P.) e massa seca de plântulas (M.S.) de sementes de *A. pyrifolium*.....14

Tabela 3. Resultados do teste de germinação (TG), teste de emergência (TE) e teste de tetrazólio (TZ) em diferentes concentrações e tempos em sementes de *A. pyrifolium*.....15

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Embriões de *A. pyrifolium* após trinta (acima) e sessenta (abaixo) minutos de coloração em soluções de tetrazólio a 0,025% (A); 0,050% (B); 0,075% (C); e 0,1% (D).....11
- Figura 2.** Embriões de *A. pyrifolium* após noventa (acima) e cento e vinte (abaixo) minutos de coloração em soluções de tetrazólio a 0,025% (A); 0,050% (B); 0,075% (C); e 0,1% (D).....11
- Figura 3.** Embriões viáveis e vigorosos de *A. pyrifolium* (A, B e C).....12
- Figura 4.** Embriões viáveis e não vigorosos de *A. pyrifolium* (A e B).....12
- Figura 5.** Embriões não viáveis de *A. pyrifolium* (A, B e C).....13

BELARMINO, K. S. **ADEQUAÇÃO DA METODOLOGIA DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA SEMENTES DE *Aspidosperma pyrifolium* MART.** 2012. Monografia (Graduação) Curso de Agronomia. CCA/UFPB, Areia – PB, 2012.

ADEQUAÇÃO DA METODOLOGIA DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA SEMENTES DE *Aspidosperma pyrifolium* MART

RESUMO: A maioria das espécies florestais são pouco conhecidas no que diz respeito à qualidade fisiológica de suas sementes, tais informações são de grande valia, seja para sua própria preservação ou mesmo para diversos fins de utilização. Este trabalho teve por objetivo a adequação da metodologia para a elaboração de um protocolo com vistas à execução do teste de tetrazólio em sementes de pereiro (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.). As sementes foram originárias de São João do Cariri (PB) e beneficiadas manualmente, sendo posteriormente cortadas lateralmente e pré-condicionadas, por 3 horas, entre folhas de papel umedecido 2,5 vezes o seu peso, a 25 °C. O tegumento da semente foi retirado e os embriões submetidos à solução de tetrazólio, para coloração, nas concentrações de 0,025; 0,050; 0,075 e 0,1% durante 30, 60, 90 e 120 minutos, no escuro em B.O.D. a 40 °C. Após seccionamento longitudinal entre os cotilédones e no centro do eixo embrionário, os embriões foram avaliados quanto à uniformidade e à intensidade da coloração apresentadas pelos tecidos, sendo classificados em: não coloridos e coloridos com intensidades fraca, adequada ou forte. Os resultados obtidos foram comparados com os do teste de germinação e emergência. Com base nos resultados observou-se que o teste de tetrazólio é eficiente para avaliar a viabilidade de sementes de pereiro, utilizando-se a solução de tetrazólio a 0,075%, por 90 minutos, a 40 °C.

Palavras-chave: coloração, pereiro, viabilidade.

BELARMINO, K. S. **ADAPTATION OF METODOLOGY OF TETRAZOLIUM TEST FOR SEEDS OF *Aspidosperma pyrifolium* MART.** 2012. Graduation essay in Agronomy. CCA/UFPB, Areia – PB, 2012.

**ADAPTATION OF METODOLOGY OF TETRAZOLIUM TEST FOR SEEDS OF
Aspidosperma pyrifolium MART**

ABSTRACT: Many forest species are less known according to physiological quality of its seeds, these information are viable, as well as its own preservation or to other means. This work had the aim the adaptation of methodology to elaborate a protocol to execute tetrazolium test on seeds of pereiro – *Aspidosperma pyrifolium* Mart. Seeds came from São João do Cariri (PB) and handly beneficite, afterwards cut laterably and conditioning, for 3 hours, with watered paper sheet 2,5 times its weight at 25 °C. Seed tegument was left out and embryo subjected to tetrazolium solution, to coloring, on concentrations at 0,025; 0,050; 0,075 e 0,1% during 30, 60, 90 and 120 minutes, on darkness in B.O.D. at 40°C. After longitudinal separation among cotiledon and embryo axe center, embryo were evaluated according to its uniformity and coloring intensity showed by tissues, being classified in: non-colored and colored with weak, adequate or strong intensities. The results were compared with germination test (conducted in 4 repetitions of 25 seeds at 25 °C constantly, with a paper roll as substrate) and emergence (conducted in 4 repetitions of 25 seeds, seeding in plastic plates with washed sand in a greenhouse). Based on results, it had been observed that tetrazolium test is efficient to evaluate pereiro, seeds viability, using tetrazolium solution at 0,075%, during 90 minutes, at 40 °C.

Keywords: coloring, pereiro, viability.

1. INTRODUÇÃO

Um dos maiores desafios do conhecimento científico brasileiro é o estudo e a conservação da biodiversidade da Caatinga, uma região natural exclusivamente brasileira, sendo também a menos estudada e a menos protegida, fato este que se deve ao extenso processo de alteração e deterioração ambiental provocados pelo uso insustentável de seus recursos (LEAL et al., 2003).

Apocynaceae é uma das maiores famílias de Angiospermas, abrangendo cerca de 355 gêneros e 3700 espécies (JUDD et al., 2008), as quais podem possuir os mais diversos hábitos, como árvores, arbustos, lianas e poucas ervas (KINOSHITA, 2005). Dentre suas espécies podemos encontrar *Aspidosperma pyrifolium* Mart., de ocorrência na Caatinga, também sendo conhecida como pereiro, pau-de-coaru e pequiá-da-mata (CORREA, 1978). É uma árvore de porte regular, podendo atingir até 5 m de altura e cuja madeira é amplamente empregada para serviços de carpintaria por apresentar boa qualidade para estes fins (TIGRE, 1968). Logo, a pressão de uso aliada ao crescimento demográfico em áreas nativas já fazem dessa espécie uma das ameaçadas de extinção.

As informações sobre a qualidade fisiológica de sementes florestais são escassas, para os diversos fins de utilização, inclusive para sua própria preservação (MONDO et al., 2008). De acordo com Deminiciis et al. (2009), o emprego de testes rápidos para a avaliação da qualidade fisiológica de um lote de sementes é uma ferramenta imprescindível, pois ajuda na tomada de decisões quanto ao manejo de lotes de sementes durante as etapas de pré e de pós-colheita.

Tradicionalmente, o teste de germinação é o mais utilizado para a análise da qualidade de sementes, o qual determina a proporção de sementes capazes de produzir plântulas normais sob condições favoráveis de temperatura, luz, umidade, aeração e substrato (BEWLEY E BLACK, 1994). Entretanto, outro método que vem sendo utilizado com êxito para avaliar a qualidade de sementes de espécies florestais é o teste de tetrazólio (FERREIRA et al., 2004); este pode propiciar informações valiosas sobre a viabilidade e o vigor, além de possibilitar o diagnóstico dos principais problemas que podem afetar a qualidade das sementes (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

O teste de tetrazólio foi desenvolvido primeiramente por Lakon em 1939 e em 1972, aperfeiçoado e divulgado por Moore, é um teste baseado na atividade dos tecidos vivos, refletindo a atividade das enzimas desidrogenases, envolvidas no processo de respiração (AOSA, 1983).

Para o teste de tetrazólio são indicados procedimentos, denominados de pré-condicionamento, estes visam à absorção da solução nos tecidos de interesse a serem avaliados. Em sementes de espécies florestais, diversos tratamentos de pré-condicionamento vêm sendo utilizados, a exemplo do corte, escarificação e embebição em água. Além do pré-condicionamento, a utilização de concentração da solução de tetrazólio, tempo e temperatura de condicionamento e avaliação adequada da coloração das sementes, são fundamentais para que se obtenham resultados confiáveis a respeito da qualidade das sementes (OLIVEIRA et al., 2005).

A eficiência do teste em avaliar a viabilidade das sementes depende da adequação do mesmo para cada espécie, de modo a definir as condições apropriadas para a hidratação, o preparo, a coloração e a avaliação das sementes (PINTO et al., 2008). Em condições normais, os resultados de viabilidade obtidos pelos testes de tetrazólio e de germinação devem ser semelhantes, sendo permitidas diferenças de até 5% entre estes. No entanto, podem ocorrer diferenças superiores a este valor (FERREIRA et al., 2001).

Estudos que evidenciam metodologias adequadas para o emprego das determinações do teste de tetrazólio em espécies florestais, ainda são escassos. Contudo, alguns trabalhos vêm sendo realizados, a exemplo com a espécie *Tabebuia aurea* (OLIVEIRA et al., 2006), onde a concentração de 0,1% e acondicionamento à 28 °C, no escuro, por 24 horas, foi suficiente para estimar a viabilidade das sementes, apresentando resultados similares aos encontrados na germinação em laboratório. Segundo Masetto et al. (2009), a utilização da concentração de 0,1% de sal de tetrazólio durante 4 horas a 30 °C permitiu coloração uniforme e foi eficiente para avaliação da viabilidade das sementes de *Eugenia pleurantha* (pitanga-do-mato).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo adequar a metodologia para a elaboração de um protocolo com vistas à execução do teste de tetrazólio em sementes de *Aspidosperma pyrifolium* Mart.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A Caatinga

A Caatinga é um bioma da região Nordeste, correspondendo a quarta maior formação vegetal do Brasil, após a Amazônia, o Cerrado e a Mata Atlântica (AGUIAR et al., 2002). Fitogeograficamente, ocupa cerca de 11% do território nacional, abrangendo os Estados da Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí e Norte de Minas Gerais (MARACAJÁ e BENEVIDES, 2006).

Sua variada cobertura vegetal está, em grande parte, determinada pelo clima, relevo e embasamento geológico que, em suas múltiplas inter-relações, resultam em ambientes ecológicos bastante variados (RODAL et.al., 2008). Sua grande extensão, os tipos de clima e solo e multiplicidade nas formas de relevo do semiárido, que se traduz em diferentes paisagens como os vales úmidos, as chapadas sedimentares e as amplas superfícies pediplainadas explicariam a razão da flora possuir tão alto grau de variabilidade (SANTANA e SOUTO, 2006). Botanicamente, a Caatinga constitui um complexo vegetal muito rico em espécies lenhosas e caducifólias (CÂNDIDO et al., 2005).

Assim como outros ecossistemas, tem passado por um grande processo de degradação ambiental, provocada principalmente pelo uso insustentável dos seus recursos naturais; a pouco tempo vem sendo estudada mais detalhadamente e até os dias atuais pouco se sabe a respeito de suas potencialidades (BARBOSA et al., 2007). Oliveira et al. (2009) menciona que o processo de degradação ocorrente é ocasionado principalmente pelo desmatamento destinado a ocupação com áreas agrícolas e de pecuária, e o uso não planejado de seus recursos tem proporcionado a fragmentação da sua cobertura vegetal, restringindo sua distribuição a remanescentes que podem ser considerados refúgios para a biodiversidade local.

Estudos com levantamento florístico em três áreas de Caatinga do Cariri paraibano constataram que as famílias com maior número de espécies no estrato arbustivo-arbóreo foram Cactaceae e Euphorbiaceae, bem como observaram que o hábito arbóreo foi superior ao arbustivo em número de espécies, das quais se destacaram *Poincianella pyramidalis* (catingueira) e *Aspidosperma pyrifolium* (pereiro) como elementos arbóreos de maior ocorrência, e *Croton blanchetianus* (marmeleiro) e *Jatropha mollissima* (pinhão) como componentes arbustivos presentes em maior quantidade (ARAÚJO et al., 2009).

2.2. A espécie *Aspidosperma pyrifolium* Mart.

A família Apocynaceae é uma das maiores entre as Angiospermas, abrangendo cerca de 355 gêneros e 3700 espécies (JUDD et al., 2008), as quais podem possuir os mais diversos hábitos, como árvores, arbustos, lianas e poucas ervas (KINOSHITA, 2005). *Aspidosperma* é um dos seus gêneros, com cerca de 43 espécies de distribuição neotropical (MARCONDES-FERREIRA e KINOSHITA, 1996), cujas espécies apresentam importância como fornecedoras de madeira nobre e como detentoras de alcalóides (LOPES et al., 1989), grupo de substâncias com notórias aplicações antimicrobianas. Destacando-se o potencial dos alcalóides provenientes de espécies de *Aspidosperma* no tratamento do câncer (OLIVEIRA e ALENCAR-FILHO, 1994).

Aspidosperma pyrifolium Mart. (pereiro) é uma árvore de porte regular, podendo atingir até 5 m de altura (BRAGA, 1976). Seu fruto é do tipo folículo piriforme, com 47,9 – 77,6 mm de comprimento e 27,2 – 42,2 mm de largura; deiscente, lenhoso, de superfície rugosa e coloração marrom, apresentando rugas brancas, forma de gota achatada e com 4 – 9 sementes por fruto (AZEVEDO et al., 2011).

A semente é alada, com forma arredondada ou cordiforme, discóide, lenticular, com tegumento de textura cartácea, de coloração marrom e seus vários tons, áspero, sulcado e opaco, possui tegmen fino e transparente (FERREIRA et al., 2000). Apresenta 13,0 – 19,1 mm de comprimento e 13,1 – 18,2 mm de largura. As sementes revelam certa dificuldade para serem coletadas, pois logo após a deiscência do fruto, as mesmas se desprendem e são carregadas pelo vento; dessa forma, os frutos devem ser coletados quando estão no início da deiscência, para que as sementes não sejam perdidas (AZEVEDO et al., 2011).

As alas e o formato das sementes são os principais responsáveis pelo sucesso da dispersão, espalhando as sementes por longas distâncias (SILVA et al., 2004; LEAL et al., 2003). Em estudo com dispersão de sementes de uma comunidade arbórea em Pernambuco a espécie *A. pyrifolium* foi classificada como anemocórica; em se tratando do grupo ecológico como secundária tardia, sendo árvores com altura média de 8,7 m, com floração de outubro a novembro e frutificação entre agosto e setembro (MARANGON et al., 2010).

Ao observar a distribuição espacial de algumas espécies da caatinga Costa et al. (2010) constataram que as populações têm distribuição homogênea, com exceção da população de *A. pyrifolium*, a qual apresenta agregações, ou seja, os indivíduos distribuem-se em grupos.

Ao estudar a composição florística e a estrutura comunitária da vegetação de quatro áreas serranas no Cariri paraibano Oliveira et al. (2009) observaram 54 espécies ocorrentes,

entre as quais *A. pyrifolium* foi uma das cinco com maior valor de importância. Semelhantemente aos resultados obtidos por Andrade et al. (2005) ao analisar a cobertura de duas fitofisionomias de Caatinga ocorrentes no município de São João do Cariri (PB), onde *A. pyrifolium*, juntamente com *Poincianella pyramidalis* (catingueira), *Croton sonderianus* (marmeleiro) e *Jatropha molissima* (pinhão) revelaram-se como espécies de maior importância para as áreas estudadas.

2.3. Qualidade fisiológica de sementes

A qualidade fisiológica de sementes geralmente é avaliada pelo teste de germinação, entretanto, este resultado nem sempre corresponde com a emergência em campo (BHERING et al., 2000). Visto que este é realizado em condições ideais, é comum que haja uma superestimativa do potencial fisiológico das sementes fazendo-se necessária sua complementação através de testes de vigor que resultem em informações consistentes, padronizadas e em curto prazo (MUNIZ et al., 2004). Os testes de vigor têm por finalidade diferenciar os níveis de qualidade fisiológica das sementes e que não podem ser detectados pelo teste de germinação (KRZYŻANOWSKI e FRANÇA NETO, 2001). Alguns destes testes estimam indiretamente essa qualidade fisiológica, como é o caso dos testes de condutividade elétrica (BLANDON e BIDDLE, 1992) e tetrazólio (BRASIL, 2009; COSTA e SANTOS, 2010).

A germinação pode ser afetada por uma série de fatores internos e externos, sendo os fatores substrato, luz, água, oxigênio, dormência e temperatura os que mais afetam o processo germinativo das sementes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). O reduzido percentual de germinação é o primeiro indicativo da baixa qualidade fisiológica, que pode estar associada também a redução do vigor (SANTOS, 2010).

Os testes de vigor são desenvolvidos com o objetivo de identificar possíveis diferenças no grau de deterioração de sementes com potencial germinativo semelhante, podendo estimar sua capacidade de armazenamento e emergência de plântulas em campo (FRANZIN et al., 2004). Segundo Marcos Filho (2005) o vigor das sementes é o reflexo de um conjunto de características ou propriedades que determinam o seu potencial fisiológico.

2.4. Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio é um teste bioquímico que pode ser usado para avaliação da qualidade fisiológica de sementes, podendo determinar sua viabilidade após tratamentos pré-germinativos, danos por secagem, por insetos e por umidade bem como detectar danos mecânicos de colheita e/ou beneficiamento. No teste, as sementes são embebidas em uma solução incolor de 2, 3, 5 trifenil cloreto ou brometo de tetrazólio que é usada como um indicador para revelar o processo de redução que acontece dentro das células vivas. Neste processo, os íons de H^+ liberados durante a respiração dos tecidos vivos, a qual ocorre na mitocôndria da célula, são transferidos por um grupo de enzimas (desidrogenases) e interagem com o tetrazólio, o qual é reduzido a um composto vermelho, estável e não difusível chamado de trifenil formazan. Esta reação se processa no interior das células vivas e o composto não se difunde, havendo nítida separação dos tecidos vivos e coloridos que respiram, daqueles mortos e que não colorem (BRASIL, 2009).

Para que os resultados do teste sejam satisfatórios, é necessário que a solução de tetrazólio seja adequadamente absorvida pelas sementes. Por essa razão, algumas espécies necessitam passar por etapas preparatórias previamente à imersão na solução de tetrazólio. Em geral, as sementes devem ser pré-embebidas em água antes de serem submetidas à imersão na solução de tetrazólio, com o objetivo de ativar o metabolismo enzimático, uma etapa conhecida como pré-condicionamento (COSTA et al., 2010). Dentre os métodos de pré-condicionamento mais utilizados podem ser citados a punção, o corte e a retirada do tegumento; no entanto, algumas espécies apresentam camadas mucilaginosas que devem ser retiradas para que haja a absorção do sal de tetrazólio (NERY et al., 2007). Para remover a mucilagem de sementes de melancia Bhering et al. (2005) fizeram uso da embebição em água e cal virgem.

Para as espécies florestais brasileiras, o teste de tetrazólio é utilizado de forma restrita, embora apresente potencial para ser empregado rotineiramente, uma vez que parte dessas espécies necessita de um período longo para as sementes germinarem (PINTO et al., 2008). Utilizando sementes de *Gleditschia amorphoides* (sucará), Fogaça et al. (2006) obtiveram bons resultados com sementes escarificadas mecanicamente e embebidas por 48 horas, para posterior retirada do tegumento, e utilizando solução de tetrazólio à 0,075% por 3 horas, acondicionadas em câmara a 35 °C, no escuro.

Por se tratar de um teste rápido e confiável na análise de sementes, o teste de tetrazólio é recomendado para avaliação de várias espécies florestais, como: *Aspidosperma subincanum*

(peroba-de-gomo), *Aspidosperma discolor* (guatambu-vermelho) e *Tabebuia alba* (ipê-amarelo) (MATTEUCCI et al., 1999); *Astronium graveolens* (guaritá), *Jacaranda cuspidifolia* (jacarandá) e *Parapiptadenia rigida* (angico) (FOGAÇA, 2003); *Peltophorum dubium* (canafístula) (OLIVEIRA et al., 2005); *Ocotea porosa* (imbuia) (KALIL-FILHO et al., 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) do Centro de Ciências Agrárias – Campus II – UFPB. As sementes de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. foram coletadas no município de São João do Cariri (PB) e beneficiadas manualmente, sendo posteriormente mantidas em condições adequadas no laboratório.

Previamente à execução dos experimentos, foi determinado o teor de água das sementes, realizado pelo método de estufa a 105 ± 3 °C por 24 horas com quatro repetições de 25 sementes (BRASIL, 2009). Os resultados da determinação dos teores de água foram calculados com base no peso das sementes úmidas (base úmida).

Para avaliação de metodologias destinadas ao preparo e coloração para o teste de tetrazólio, as sementes representativas do lote foram cortadas lateralmente e pré-condicionadas, por 3 horas, entre folhas de papel umedecido, a 25 °C. Além desta, quatro metodologias destinadas ao preparo das sementes foram testadas: com e sem corte lateral, sendo ambas submetidas à imersão em água destilada por 2 horas, a 25 °C e disposição entre folhas de papel umedecido por 2 horas, a 25 °C. Após o pré-condicionamento, o tegumento das sementes foi cuidadosamente removido, de forma a expor as estruturas do embrião sem causar danos ao mesmo. Posteriormente, utilizando-se quatro repetições de 25 sementes, colocadas em copos plásticos com capacidade de 50 mL, foi adicionada a solução de tetrazólio, para coloração, nas concentrações de 0,025; 0,050; 0,075 e 0,1% durante 30, 60, 90 e 120 minutos, no escuro em germinador tipo B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) a 40 °C. Após cada período, os embriões foram lavados em água corrente e mantidos submersos em água até o momento da avaliação. Estes foram analisados individualmente, externa e internamente, após seccionamento longitudinal entre os cotilédones e no centro do eixo embrionário. Foram avaliados apenas quanto à uniformidade e à intensidade da coloração apresentadas pelos tecidos, sendo classificados em: não coloridos e coloridos com intensidades fraca, adequada ou forte.

As sementes foram divididas em três classes: Classe 1: viáveis e vigorosas; Classe 2: viáveis e não vigorosas e Classe 3: não viáveis; conforme a coloração e firmeza dos tecidos do embrião, sendo identificada também a presença e a localização dos danos. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes viáveis. A *Association of Official Seed Analysts* - AOSA (1983) recomenda a interpretação do teste procurando enquadrar as sementes nessas três classes; as classes 1 e 2 representando as sementes viáveis e a 3, as não-viáveis. Esse procedimento foi adotado por Dias e Barros (1999) para a interpretação de testes conduzidos com sementes de milho.

Para avaliar a eficiência do teste de tetrazólio na viabilidade das sementes, foram realizados os testes de germinação e emergência de plântulas, para posterior comparação dos resultados.

O teste de germinação foi conduzido em quatro repetições de 25 sementes na temperatura constante de 25 °C, tendo como substrato o rolo de papel. Antes da instalação foi adicionada água destilada no volume 2,5 vezes o peso do papel seco. Todos os tratamentos foram levados a germinadores tipo B.O.D. O teste de emergência foi conduzido em casa de vegetação, utilizando-se bandeja plástica contendo areia lavada e autoclavada, subdividida em quatro repetições de 25 sementes, sendo feitas irrigações diárias para manutenção da umidade no substrato.

A primeira contagem foi realizada aos 6 e 8 dias após a instalação, para os testes de germinação e emergência, respectivamente. A contagem final de germinação ao 16º dia e a de emergência ao 20º dia, após instalação, computando-se o número de plântulas normais de acordo com as RAS (BRASIL, 2009) e os resultados expressos em porcentagem. Também foram calculados os Índices de Velocidade de Germinação e Emergência (IVG e IVE), de acordo com a equação proposta por Maguire (1962); correspondendo às contagens diárias de plântulas normais do 6º ao 16º dia e do 8º ao 20º dia, respectivamente, após o início do teste. Ao final dos testes, as plântulas normais de cada repetição foram medidas com o auxílio de uma régua graduada, sendo os resultados expressos em cm/plântula. Posteriormente, estas foram colocadas em sacos de papel kraft e submetidas à secagem em estufa regulada a 65 °C até atingirem peso constante.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), realizando-se análise de variância (Anova). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que as sementes de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. necessitam ser submetidas ao corte lateral antes de serem pré-condicionadas, para facilitar a remoção do tegumento, e, assim, permitir a penetração da solução de tetrazólio nos seus tecidos. O pré-condicionamento entre folhas de papel umedecido evita a embebição direta das sementes, contribuindo com a eficiência do teste de tetrazólio. O pré-condicionamento das sementes, promove o amolecimento do tegumento, facilita a penetração da solução de tetrazólio e ativa os sistemas enzimáticos respiratórios, resultando em coloração mais visível (VIEIRA e VON PINHO, 1999). Esse processo facilita o preparo das sementes para o teste, à penetração da solução de tetrazólio e o desenvolvimento de uma coloração mais nítida e evidente (MOORE, 1985).

Diferentemente do que ocorre com sementes de *A. peregrina*, as quais foram pré-condicionadas por imersão em água destilada a 25 °C por 14 horas (PINHO et al., 2011). A imersão direta das sementes em água não deve ser feita por período de tempo excessivo, pois pode acarretar problemas devido à redução na disponibilidade de O₂ para as sementes comprometendo a sua qualidade e, conseqüentemente, podendo levar à obtenção de resultados incorretos (COSTA, 1992).

Na Tabela 1, encontram-se as combinações entre as concentrações do sal e os períodos de coloração. Os melhores resultados em termos de intensidade e uniformidade foram obtidos com a concentração a 0,075% e período de coloração de 90 minutos, resultados semelhantes foram obtidos com a mesma concentração em 120 min. Normalmente, a absorção de água para reativação das atividades metabólicas das sementes ocorre entre 8 e 16 horas de embebição (MARCOS FILHO, 2005). Com os resultados obtidos, pode-se verificar que a pré-hidratação das sementes de *A. pyrifolium* entre folhas de papel umedecido por 3 horas foi suficiente para que as atividades metabólicas do embrião fossem restabelecidas, visto que permitiu a coloração adequada dos tecidos quando em contato com a solução de tetrazólio.

Os embriões submetidos à solução de tetrazólio a 0,1% por 90 minutos, apresentaram intensidade razoável de coloração, porém menos uniforme. O tempo de 30 minutos resultou numa grande quantidade de embriões não coloridos, quando utilizadas as concentrações de 0,025% e 0,050%, as quais possivelmente foram insuficientes para coloração. De forma semelhante, o tempo de 60 minutos para estas concentrações promoveu elevados índices de embriões não coloridos e com coloração fraca. Ao avaliar a qualidade de lotes de sementes de

canafístula (*Peltophorum dubium*) Oliveira et al. (2005) evidenciaram como adequadas a concentração de 0,1% da solução de tetrazólio por 150 minutos a 25 °C.

Tabela 1 – Padrão de coloração de embriões de *A. pyrifolium* submetidos à imersão em soluções de tetrazólio a 0,025; 0,050; 0,075 e 0,1%, por 30, 60, 90 e 120 minutos.

Estrutura	Tempo de coloração	Solução de tetrazólio	Padrão de coloração (%)			
			Não coloridos	Coloridos		
				Fraca	Adequada	Forte
Embriões de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> Mart.	30 min.	0,025 %	98	2	0	0
		0,050 %	92	8	0	0
		0,075 %	85	15	0	0
		0,1 %	68	32	0	0
	60 min.	0,025 %	68	32	0	0
		0,050 %	68	30	2	0
		0,075 %	38	54	8	0
		0,1 %	10	63	25	2
	90 min.	0,025 %	40	58	2	0
		0,050 %	12	65	20	3
		0,075 %	0	8	92	0
		0,1 %	0	5	85	10
	120 min.	0,025 %	10	72	18	0
		0,050 %	0	42	55	3
		0,075 %	0	8	87	5
		0,1 %	0	8	80	12

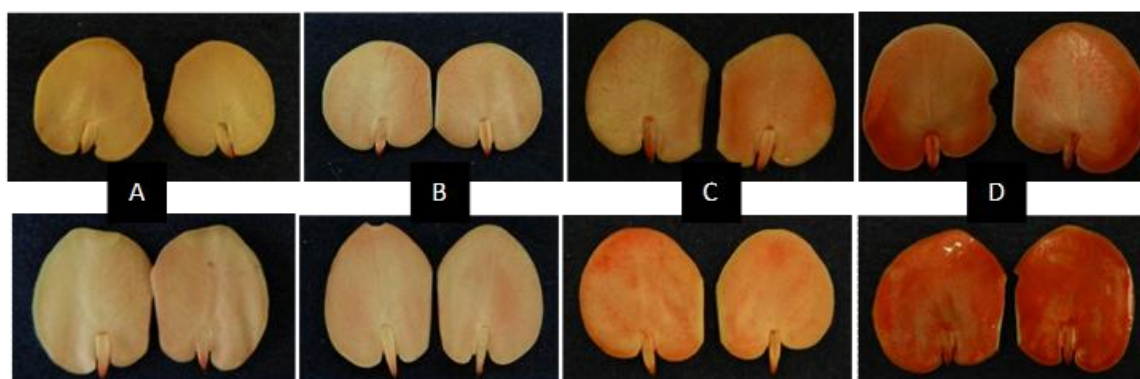
Nas Figuras 1 e 2 verifica-se a intensidade de coloração promovida aos embriões de *A. pyrifolium* quando estes foram submetidos aos diferentes períodos de tempo e concentrações da solução de tetrazólio. Com exceção da concentração de 0,1%, o aspecto branco leitoso ou amarelado foi observado no período de 30 minutos, não diferindo do observado com as concentrações de 0,025% e 0,050% em 60 minutos. Segundo Krzyzanowski et al. (1999), a escolha da concentração e do tempo de incubação das sementes no teste de tetrazólio deve se basear na facilidade de diferenciação das sementes viáveis e inviáveis. De acordo com Costa et al. (2010), para que os resultados do teste sejam satisfatórios, é necessário que a solução de tetrazólio seja adequadamente absorvida pelas sementes, e estas, quando viáveis, tendem a absorver a solução lentamente, desenvolvendo coloração mais suave do que sementes deterioradas, as quais adquirem coloração rosa forte. As duas maiores concentrações (0,075% e 0,1%) nos dois maiores períodos de tempo (90 e 120 minutos) promoveram colorações mais brilhantes nos embriões de *A. pyrifolium* (Fig. 2), destacando-se uma maior viabilidade de

sementes e melhor visualização das estruturas na concentração de 0,075% por 90 minutos. Resultados semelhantes foram encontrados por Nery et al. (2007) para sementes de melancia (*Citrullus lanatus*) e por Pinto et al. (2008) para sementes de coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora*), sendo indicados para a avaliação da qualidade das mesmas, a concentração de 0,075% por 4 horas a 30 °C e 0,075% por 90 minutos a 40 °C, respectivamente.

Figura 1. Embriões de *A. pyrifolium* após trinta (acima) e sessenta (abaixo) minutos de coloração em soluções de tetrazólio a 0,025% (A); 0,050% (B); 0,075% (C); e 0,1% (D).



Figura 2. Embriões de *A. pyrifolium* após noventa (acima) e cento e vinte (abaixo) minutos de coloração em soluções de tetrazólio a 0,025% (A); 0,050% (B); 0,075% (C); e 0,1% (D).

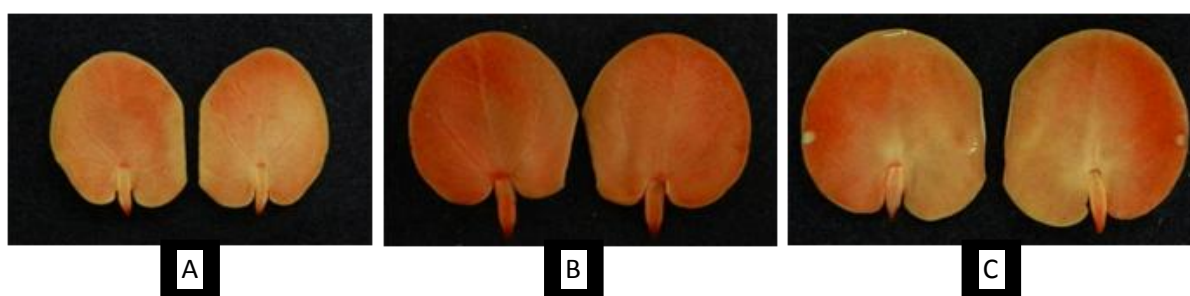


Na avaliação da qualidade fisiológica pelo teste de tetrazólio, as sementes classificadas como viáveis e vigorosas (classe 1) foram as que apresentaram embriões com coloração rosa claro brilhante (Figura 3-A) ou vermelho brilhante (Figura 3-B), com tecidos firmes e túrgidos, sem lesões visíveis, ou apresentando apenas lesões superficiais em áreas não críticas

dos cotilédones, as quais estão situadas nas extremidades, no seu contorno, não estando próximas da radícula nem da parte central do cotilédone (Figura 3-C).

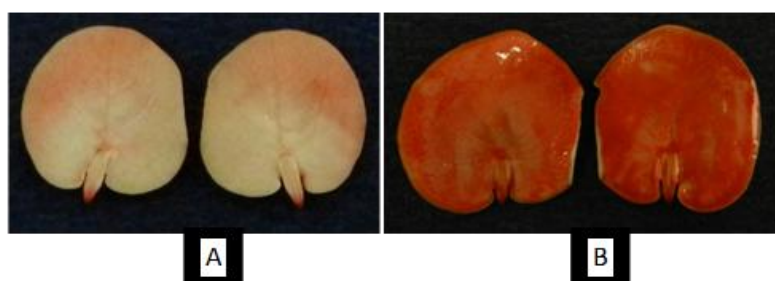
A remoção do tegumento das sementes após o pré-condicionamento mostrou-se uma maneira adequada como preparo das sementes para o teste de tetrazólio. As Figuras 3 A, B e C mostram a melhor eficiência na difusão da solução de tetrazólio para o interior dos embriões, resultando em coloração mais visível.

Figura 3. Embriões viáveis e vigorosos de *A. pyrifolium* (A, B e C).



As sementes classificadas como viáveis e não vigorosas (classe 2) foram aquelas cujos embriões apresentaram menos de 50% das áreas dos cotilédones não coloridos, com eixo embrionário sem coloração, contudo, sem lesões e com tecidos firmes e túrgidos (Figura 4-A); e embriões com coloração vermelho carmim-escuro, porém brilhantes e com boa textura (Figura 4-B).

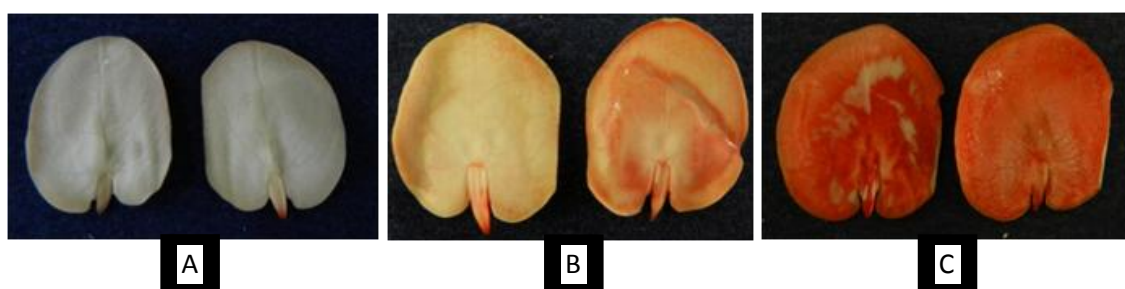
Figura 4. Embriões viáveis e não vigorosos de *A. pyrifolium* (A e B).



A classificação em sementes não-viáveis (classe 3) foi aplicada aquelas em que os embriões apresentaram aspecto branco leitoso ou amarelado (Figura 5-A), danos em áreas

críticas dos cotilédones e eixo embrionário com radícula completamente descolorida (Figura 5-B), ou coloração vermelho intensa atingindo o cilindro central (Figura 5-C). Esse comportamento provavelmente deve-se ao fato dessas regiões estarem mais expostas a condição de estresse. Como um dos primeiros sinais da deterioração e a perda da integridade das membranas, há um aumento na difusão da solução de tetrazólio nos tecidos (DELOUCHE, 2002; FRANÇA NETO et al., 1998).

Figura 5. Embriões não viáveis de *A. pyrifolium* (A, B e C).



A tabela 2 refere-se aos resultados dos testes de germinação e emergência. Em ambos as sementes expressaram alta qualidade fisiológica, sendo o teste de germinação responsável pela obtenção de um percentual elevado de viabilidade (98%). O teste de germinação, realizado em condições ótimas de laboratório, consiste em determinar o potencial germinativo de um dado lote de forma a avaliar a qualidade fisiológica das sementes para fins de semeadura e produção de mudas (BRASIL, 2009; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). Além disso, a germinação de sementes serve como base para os processos de sucessão secundária, visto que a partir dela ocorrem os processos subsequentes de estabelecimento de plântulas e regeneração de comunidades vegetais (GOMES e FERNANDES, 2002).

O teste de emergência em casa de vegetação resultou em 86% de plântulas emersas de *A. pyrifolium*. Este teste é considerado o melhor indicativo para inferir sobre o vigor de sementes, pois na sua execução devem ser utilizadas condições que simulem aquelas que as sementes estarão sujeitas por ocasião da semeadura em campo (GUEDES et al., 2009).

Tabela 2 – Valores médios referentes ao teor de água (T.A.), porcentagem de germinação e emergência (G. e E.), primeira contagem de germinação e emergência (P.C.G. e P.C.E.), índice de velocidade de germinação e emergência (I.V.G. e I.V.E.), comprimento de plântulas (C.P.) e massa seca de plântulas (M.S.) de sementes de *A. pyrifolium*.

Variáveis					
T.A. (%)	G. (%)	P.C.G. (%)	I.V.G.	C.P. (cm/pl.)	M.S. (mg/pl.)
8,0	98,0	94,0	4,06	14,0	26,5
	E. (%)	P.C.E. (%)	I.V.E.	C.P. (cm/pl.)	M.S. (mg/pl.)
	86,0	32,0	2,25	13,99	43,5

Comparando-se os resultados dos diferentes tratamentos em relação à estimativa da viabilidade das sementes, verificou-se que a concentração de 0,075% por 90 minutos possibilitou uma maior visualização do eixo e das áreas vitais do embrião, resultando em 88% de sementes viáveis (Tabela 4), este resultado não diferiu significativamente do obtido com o teste de emergência, indicando que o teste de tetrazólio é eficiente na avaliação da qualidade fisiológica das sementes. A utilização de solução de cloreto de tetrazólio em concentrações baixas (0,075%), além de ser mais econômica, permite uma coloração adequada dos tecidos das sementes, sem prejudicar a visualização.

Apesar da diferença estatística obtida entre os testes de germinação e tetrazólio, este pode ser considerado adequado para esta avaliação. As médias de viabilidade entre ambos diferiram em 10%, contudo, em se tratando de espécies florestais, as quais possuem germinação desuniforme, índices como este podem ser considerados aceitáveis. De acordo com Ferreira et al. (2004), os resultados de germinação e de viabilidade pelo tetrazólio devem ser mais próximos, com margem de 5% de diferença entre eles. Entretanto, ao comparar os dois testes em sementes de *Tabebuia aurea* Oliveira et al. (2006) encontraram diferenças entre 2% e 12%, indicando que o teste é adequado para analisar a viabilidade dessas sementes. Alguns estudos confirmam a possibilidade de utilização do teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade de diversas espécies, como amendoim (CARVALHO et al., 2009), algodão (CERVI e MENDONÇA, 2009), entre outros.

Tabela 3 – Resultados do teste de germinação (TG), teste de emergência (TE) e teste de tetrazólio (TZ) em diferentes concentrações e tempos em sementes de *A. pyrifolium*.

Testes	Germinação (%)	Emergência (%)	Sementes viáveis (%)
TG	98a	-	-
TE	-	86b	-
TZ 0,075% / 90 min.	-	-	88b
TZ 0,075% / 120 min.	-	-	78c
TZ 0,1% / 90 min.	-	-	80c
TZ 0,1% / 120 min.	-	-	78c
C.V. (%)	7,18		

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

5. CONCLUSÕES

O teste de tetrazólio é eficiente para avaliar a viabilidade de sementes de pereiro;

Para o preparo das sementes, recomenda-se o corte lateral e o pré-condicionamento entre papel umedecido por 3 horas a 25 °C, e posterior remoção do tegumento;

Para a coloração, deve-se utilizar solução de tetrazólio a 0,075%, por 90 minutos, à 40 °C.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, J.; LACHER, T.; SILVA, J.M.C. **The Caatinga**. In:___ Wilderness – Earth's Last Wild Places. Cidade do México: P.R.Gil (ed), p. 174-181, 2002.

ANDRADE, L. A.; PEREIRA, J. M.; LEITE, U. T.; BARBOSA, M. R. V. Análise da cobertura de duas fitofisionomias de caatinga, com diferentes históricos de uso, no município de São João do Cariri, Estado da Paraíba. **Cerne**, v. 11, n. 3, p. 253-262, 2005.

AOSA – Association of Official Seed Analysts. **Seed Vigor Testing Handbook**. Washington, p. 93, 1983.

ARAÚJO, K. D.; PARENTE, H. N.; SILVA, E. E.; RAMALHO, C. I.; DANTAS, R. T.; ANDRADE, A. P.; SILVA, D. S. Levantamento florístico do estrato arbustivo-arbóreo em

áreas contíguas de Caatinga no Cariri paraibano. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n. 1, p. 63-70, 2010.

AZEVEDO, C. F.; SILVA, K. R. G.; BRUNO, R. L. A. Reconhecimento de plantas medicinais nativas da caatinga através da identificação de frutos e sementes. **Educação ambiental: Responsabilidade para a conservação da sociobiodiversidade**. João Pessoa: Editora Universitária da UFPB, v.1, p. 209-216, 2011.

BARBOSA, J. M.; RODRIGUES, M. A; PILIACKAS, J. M.; AGUIAR, I. B.; SANTOS JÚNIOR, N. A. Índice de maturação de sementes de *Copaifera langsdorfii* Desf. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 786-788, 2007.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**, 2 ed. Plenum Press: New York, p. 455, 1994.

BHERING, M.C.; DIAS, D.C.F.S.; GOMES, J.M.; BARROS, D.I. Métodos para avaliação do vigor de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.2, p.171-175, 2000.

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**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 176-182, 2005.

BLADON, F. L. B.; BIDDLE, A. J. A three-years study of laboratory germination, electrical conductivity and field emergence in combining peas. **Seed Abstracts**, Walbingford, v. 15, n. 8, p. 17, 1992.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3. ed. Fortaleza: ESAM, 1976. 510 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras Para Análise de Sementes**. CLAV/DNDV/SNDA/MA, Brasília, p. 365, 2009.

CÂNDIDO, M. J. D.; ARAÚJO, G. G. L.; CAVALCANTE, M. A. B. Pastagens no ecossistema semiárido brasileiro: atualizações e perspectivas futuras. In:___ Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 42, 2005, Goiânia, **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005. p. 85-94.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Campinas: Fundação Cargill, 2000. 588 p.

CARVALHO, N. M.; SILVA, J. B.; SILVEIRA, C. M.; HORVAT, R. A. Método alternativo para submeter sementes de amendoim à solução de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 18-22, 2009.

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

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: IBDF, 1978. v. 5, 687 p.

COSTA, C. J.; SANTOS, C. P. Teste de tetrazólio em sementes de leucena. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 66-72, 2010.

COSTA, N. P. **Metodologia alternativa para o teste de tetrazólio em sementes de soja**. Piracicaba, 1992. 132f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992.

COSTA, V. B. S.; CHAGAS, M. G. S.; PIMENTEL, R. M. M. Caracteres funcionais da paisagem e relações de dominância do espaço ambiental em comunidades vegetais lenhosas da restinga e da caatinga em Pernambuco. **X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão**, UFRPE: Recife, 2010.

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. 54-62, 2009.

DELOUCHE, J. C. **Germinação, deterioração e vigor da semente**. Seed News, v. 6, p. 1-7, 2002.

DIAS, M. C. L. L.; BARROS, A. S. R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de milho. In: **Vigor de Sementes: conceitos e testes**. KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D. e FRANÇA NETO, J. B. Londrina: Abrates, 1999. p. 8.4-1 a 8.4-10.

FERREIRA, R. A.; CUNHA, M. C. L. Aspectos morfológicos de sementes, plântulas e desenvolvimento da muda de craibeira (*Tabebuia caraiba* (Mart.) Bur.) - Bignoniaceae e pereiro (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.) – Apocynaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n.1, p.134-143, 2000.

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.; GUIMARÃES, M. G. G. C.; PINHO, E. V. R.; TONETTI, O. A. O. Morfologia de sementes e plântulas e avaliação da viabilidade da semente de sucupira-branca (*Pterodon pubescens* Benth. – Fabaceae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 108-115, 2001.

FOGAÇA, C. A. **Padronização do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de três espécies florestais**. 53 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

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, p. 101-107, 2006.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. **El test de tetrazolio em semillas de soja**. Londrina: Embrapa-CNPSo, 72p. (Embrapa-CNPSo. Documentos, 117), 1998.

FRANZIN, S. M.; MENEZES, N. L.; GARCIA, D. C.; WRASSE, C. F. Métodos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de alface. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 63-69, 2004.

GOMES, V.; FERNANDES, G. W. Germinação de sementes de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 16, p. 421-427, 2002.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; VIANA, J. S.; BRUNO, R. L. A.; COLARES, P. N. Q. Resposta fisiológica de sementes de *Erythrina velutina* Willd. ao envelhecimento acelerado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 323-330, 2009.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STENVENS, P. F. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sinuaer Associates Inc. Publishers, Sunderland, p. 465, 2008.

KALIL-FILHO, A. N.; LOPES, A. J.; RÊGO, G. M.; TOMACHITZ, A. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de imbuia pelo teste do tetrazólio. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 57, p. 69-72, 2008.

KINOSHITA, L. S. (coord.). Apocynaceae. In: WANDERLEY M. G. L.; SHEPHERD G. J.; MELHEM T. S.; GIULIETTI A. M. (orgs.). **Flora fanerogâmica do estado de São Paulo**. v. 4, São Paulo, FAPESP/HUCITEC. p. 35-91, 2005.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, p. 218, 1999.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B. Vigor de sementes. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 11, n. 3, p. 81-84, 2001.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. Ecologia e Conservação da Caatinga. Recife: UFPE, 2003. 804 p.

LOPES, J. N. C.; LOPES, J. L. C.; VICHNEWSKI, W.; NASI, A. M. T. T.; SOUZA, C. P. Preliminary screening of brasilian plant extracts for molluscicidal activity. **Planta Medica**, v. 55, n. 4, p. 388, 1989.

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

MARACAJÁ, P. B.; BENEVIDES, D. S. Estudo da Flora Herbácea da Caatinga no Município de Caraúbas no Estado do Rio Grande do Norte. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 6, n. 1, p. 165-175, 2006.

MARANGON, G. P.; CRUZ, A. F.; BARBOSA, W. B.; LOUREIRO, G. H.; HOLANDA, A. C. Dispersão de sementes de uma comunidade arbórea em um remanescente de mata atlântica, município de Bonito, PE. **Revista Verde**, Mossoró, v. 5, n. 5, p. 80-87, 2010.

MARCONDES-FERREIRA, W.; KINOSHITA, L. S. Uma nova divisão infragenérica para *Aspidosperma* Mart. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 19, n. 2, p. 203-214, 1996.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495 p.

MASETTO, T. E.; DAVIDE, A. C.; FARIA, E. A. A. S.; REZENDE, R. K. S. Avaliação da qualidade de sementes de *Eugenia pleurantha* (Myrtaceae) pelos testes de germinação e tetrazólio. **Agrarian**, Lavras, v. 2, n. 5, p. 33-46, 2009.

MATTEUCCI, M. B. A.; GUIMARÃES, N. N. R.; TIVERON FILHO, D. Utilização do teste de tetrazólio na verificação da viabilidade de germinação de três espécies do cerrado: peroba-de-domo (*Aspidosperma subincanum* Mart.), guatambu-vermelho (*Aspidosperma discolor* A. DC.) e ipê-amarelo (*Tabebuia alba* (Cham.) Sandw.), armazenadas em câmara fria por 3, 4 e 5 anos. **Informativo Abrates**, Curitiba, v. 9, n. 1/2, p. 186, 1999.

MONDO, V. H. V.; BRANCALION, P. H. S.; CÍCERO, S. M.; NOVENBRE, A. D. L. C.; DOURADO NETO, D. Teste de germinação de sementes de *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan (Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 177-183, 2008.

MOORE, R.P. **Handbook on tetrazolium testing**. Zurich: ISTA, 1985, 99p.

MUNIZ, M. F. B.; GONÇALVES, N.; GARCIA, D. C.; KULCZYNSKI, S. M. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de melão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 2, p. 144-149, 2004.

NERY, M. C.; CARVALHO, M. L. M.; OLIVEIRA, L. M. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 365-372, 2007.

OLIVEIRA, A. K. M.; SCHELEDER, E. D.; FAVERO, S. Caracterização morfológica, viabilidade e vigor de sementes de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, p. 25-32, 2006.

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

OLIVEIRA, M. M.; ALENCAR FILHO, R. A. Olivacina plus coadjuvants in the treatment of murine leukaemia. **Phytoterapy Research**, v. 8, n. 6, p. 352-357, 1994.

OLIVEIRA, P. T. B.; TROVÃO, D. M. B. M.; CARVALHO, E. C. D.; SOUZA, B. C.; FERREIRA, L. M. R. Florística e fitossociologia de quatro remanescentes vegetacionais em áreas de serra no Cariri paraibano. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 4, p. 169-178, 2009.

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.

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**, Londrina, v. 30, p. 1-7, 2008.

RODAL, M. J. N.; COSTA, K. C. C.; LINS-E-SILVA, A. C. B. 2008. Estrutura da vegetação caducifólia espinhosa (caatinga) de uma área do sertão central de Pernambuco. *Hoehnea* 35: 209-217_____; LINS-E-SILVA, A. C. B.; PESSOA, L. M.; CAVALCANTI, A. D. C. 2005. Vegetação e flora fanerogâmica da área de Betânia, Pernambuco. In: ARAÚJO, F. S.; RODAL, M. J. N.; BARBOSA, M. R. V. (orgs.). **Análise das variações da biodiversidade do bioma Caatinga**: suporte a estratégias regionais de conservação. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, p. 141-168.

SANTANA, J. A. S.; SOUTO, J. S. Diversidade e estrutura fitossociológica da Caatinga na estação ecológica do Seridó-RN. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 6, n. 2, p. 232-242, 2006.

SANTOS, S. R. N. Qualidade de diásporos de *Schinopsis brasiliensis* Engl. de uma área da caatinga paraibana. Areia: UFPB/CCA, 2010. 117 p. (Dissertação de mestrado).

SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; AZEVEDO NETO, A. D.; BRITO, J. Z.; CABRAL, E. L. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de Caatinga no município de Cabaceiras, Paraíba, Brasil. **Iheringia**, Série Botânica, Porto Alegre, v. 59. n. 2. p. 201-205, 2004.

TIGRE, C. B. **Silvicultura para as matas xerófilas**. Fortaleza: DNOCS, p. 175, 1968.

VIEIRA, M. G. G. C.; VON PINHO, E. V. R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, cap. 8.1, p.1-13, 1999.