

ADEQUAÇÃO DE METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE AZEVÉM PELO TESTE DE TETRAZÓLIO

KEVIN DA ROSA NUNES¹; Tassila Aparecida do Nascimento de Araújo²
Ireni Leitzke Carvalho³;

¹Universidade Federal de Pelotas1 – kevindarosanunes@gmail.com 1

²Nome da Instituição do(s) Co-Autor(es) – irenileitzke@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas irenileitzke@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O azevém (*Lolium multiflorum*) é uma espécie forrageira de forte importância na alimentação para os rebanhos da região sul do Brasil. Em razão dessa importância, existe uma procura real por sementes de azevém que tenham uma qualidade boa e que consequentemente resultando em uma pastagem uniforme (BOHN et al., 2020).

O teste de germinação é o teste mais utilizado para avaliação da qualidade fisiológica na comercialização de sementes, no entanto, para sementes de azevém demora 14 dias para obtenção do resultado, sem considerar a dormência geralmente presente em sementes recém-colhidas, podendo se estender por 21 dias, em razão da necessidade de se utilizar tratamentos específicos para promoção da germinação (BRASIL,2009), tempo considerado longo para produtores no setor de sementes e comerciantes (SILVEIRA, 2008). Diante deste cenário, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a instrução normativa N°44/2016 art.6° onde regulamenta que as sementes de forrageiras da espécie *Lolium multiflorum* L. - azevém anual - poderão ser comercializadas com base nos resultados de viabilidade obtidos por meio do Teste de Tetrazólio- TZ. O resultado deve ser expresso em porcentagem de sementes viáveis.

A utilização do teste de tetrazólio, em programas de controle de qualidade é uma ferramenta importante para tomada de decisão quanto à avaliação do potencial fisiológico de um lote de semente, pois permite a obtenção dos resultados com maior rapidez (Carvalho et.al 2019).

Segundo o protocolo de Regras para Análises de Sementes (BRASIL,2009), as orientações para o pré-umidecimento das sementes de azevém, pode ser direto em água por 3 horas ou 16 horas entre papel a 20°C. A concentração da solução de tetrazólio recomendada é 0,5% e período de coloração de 4 até 6 horas a 30°C, tempo considerado longo para atuar na logística de um laboratório de rotina. Considerando o menor tempo para realização do teste, o corte de 400 sementes leva de 2 a 3h por lote, mais 4 a 6 horas para coloração, totalizando 10 a 12h para obtenção do resultado. Carvalho et.al (2017) conseguiu reduzir o tempo de execução do teste, reduzindo o tempo de coloração em sementes de arroz para 1h e a concentração da solução de sal utilizada foi reduzida de 0,5 para 0,1%.

Diante do exposto, nesse estudo, objetivou-se estudar opções de redução do período de coloração e concentração do sal de tetrazólio visando reduzir o tempo de avaliação da viabilidade de sementes de azevém pelo teste de tetrazólio.

2. METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido no Laboratório Didático de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas.

Utilizou-se um lote de sementes de azevém proveniente de produtor rural local. As sementes foram caracterizadas quanto ao teor de água e germinação

Teor de água- foi realizado pelo método de estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$, durante 24 h, com duas repetições de 4 a 5 g por lote, de acordo com as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem média de teor de água para cada lote, na base úmida.

Teste de germinação- foi conduzido em caixas gerbox, onde foram utilizadas 100 sementes por repetição, sobre papel mataborrão, umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. As avaliações ocorreram no 10º dia após a implantação do teste, os resultados foram expressos em porcentual de plântulas normais. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os critérios estabelecidos pela RAS, Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Teste de tetrazólio – Sementes suficientes para realizar quatro repetições de 50 sementes foram colocadas entre papel por 16 horas a 20°C . Após, foram seccionadas longitudinalmente através do centro do eixo embrionário, e descartando aproximadamente 1/2 da largura da semente. Em seguida, 50 sementes, foram colocadas em copos plásticos com capacidade para 50 mL e imersas em solução de tetrazólio na concentração de 0,5; 0,25 e 0,1 % e levadas à estufa regulada a 30°C por 2,0; 3,0; e 4,0 horas, na ausência de luz. Ao término do período de coloração, as sementes foram lavadas em água corrente, e avaliadas individualmente, levando em consideração a intensidade e uniformidade de coloração apresentadas pelos tecidos, sendo classificadas seguindo recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009) para a cultura do azevém, utilizando microscópio estereoscópio, com aumento de até seis vezes. As sementes foram classificadas em viáveis e não viáveis de acordo com a coloração apresentada no embrião, computando-se a porcentagem de sementes viáveis.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições.

Para avaliação da eficiência do teste de tetrazólio, realizou-se comparação entre os resultados obtidos neste teste com o resultado do teste de germinação, utilizando a fórmula de Eficiência $TZ = [1 - (|G - TZ|) / G] 100$ proposto por Carvalho et. al (2017), sendo G=% de plântulas normais obtidas no teste de germinação; TZ=% de sementes viáveis obtidas no teste de tetrazólio.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1 – Viabilidade (Viab. Tz) de 1 lote sementes de azevém (%) pelo teste de tetrazólio em função de variações na concentração em solução de tetrazólio (Conc.), no tempo de coloração (TC) a uma temperatura de 30C e a viabilidade pelo teste de germinação e a eficiência do teste de tetrazólio.

Conc. (%)	TC (h)	Viab. TZ (%)	Germinação (%)	Eficiência TZ
0,25	2	48	84	57,1
	3	85	84	98,8
	4	85	84	98,8
0,5	2	38	84	45,2
	3	76	84	90,5
	4	82	84	97,6
0,1	2	42	84	50,0
	3	82	84	97,6
	4	82	84	97,6

Verificou-se a umidade do lote utilizado no teste, com um teor de 13,4, indicando que a sementes estava dentro dos padrões de armazenamento.

Comparando a média dos resultados para o período de 2 para 3 e 4 horas de coloração independente da variação da concentração de solução de tetrazólio se obteve um acréscimo no número de sementes viáveis.

Constatou-se também que no período de coloração de 2h, os resultados apresentaram de 45 a 57% de eficiência, no entanto, quando avaliado em 3h, os resultados foram de 98% de eficiência em relação ao teste padrão de germinação Silva et al. (2013) e Souza et al. (2010) relataram que houve uma dificuldade na avaliação de estruturas essenciais das sementes de tritcale e girassol, quando se utilizaram baixas concentrações em um curto período.

De acordo com Santos et al. (2006), o alto custo do sal e a visualização dos tecidos vivos das sementes, permitindo visualizar se há ou não a presença de danos, por meio de uma coloração adequada são fatores que justificam a utilização de concentrações menores do sal de tetrazólio.

Pelos resultados do teste de tetrazólio, germinação e eficiência TZ demonstrados na tabela 1, verificou-se que a partir de 3h de coloração obtém-se um resultado eficiente para o teste de tetrazólio em sementes de azevém.

A equivalência dos resultados foi confirmada pela fórmula de eficiência, que apresentou valores superiores a 97%. Importante destacar que os resultados das várias etapas deste estudo foram determinados visando reduzir o tempo total de avaliação da viabilidade das sementes de azevém.

4. CONCLUSÃO

É possível realizar o teste de tetrazólio em sementes de azevém reduzindo, o tempo de coloração para 3h e concentração do sal de tetrazólio para 0,1%.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOHN, A. ; Bortolin, G. S.; Castellanos, C. I. S. Reis, B. B.; Suñé, A.S.; Bonow, J. F. L.; Pedroso, C. E. S. ; Mittelman, A. Nitrogen fertilization of self-seeding Italian ryegrass: effects on plant structure al., forage and seed yield. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 50, n. 6, [art.] e20190510, 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura (MAPA). Instrução Normativa nº 44 de 22 de novembro de 2016. Comercialização com base nos resultados de viabilidade obtidos por meio do Teste de Tetrazólio – TZ. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, n. 183, 1 dez. 2016.

BRASIL. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395 p.

Carvalho I.L, Meneguello, G.E.; Tunes L. M., Costa, C.J.; Soares, V.N. Preparo da semente de arroz para execução do teste de tetrazolio. *Revista Colloquium Agrariae*, v.15, n.1, fev.2019.

Carvalho I.L, Meneguello, G.E.; Tunes L. M., Costa, C.J.; Soares, V.N. Methodological adjustments to the tetrazolium test in rice seeds. *Journal of Seeds Science*, v.39, n.1, março 2017.

SILVA, R. C.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; FRANCA-NETO, J. DE B.; PANOBIANCO, M. Adaptação do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de girassol. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.48, n.1, p.105-113, 2013.

SOUZA, C. R.; OHLSON, O. de C.; GAVAZZA, M. I. A.; PANOBIANCO, M. Tetrazolium test for evaluating Triticale Seed Viability. *Revista Brasileira de Sementes*, v.32, n.3, p.163-169, 2010a.

SANTOS, S. R. G.; DE PAULA, R. C.; FOGAÇA, C. A.; MÔRO, F. V.; COSTA, R. S. Viabilidade de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs (branquilho) – Euphorbiaceae – pelo teste de Tetrazólio. *Científica*, v.34, n.1, p.39- 45, 2006.