



## Pré-condicionamento de Sementes de *Ricinus communis* L. Para o Teste de Tetrázólio

### *Preconditioning Of Ricinus communis L. Seed For The Tetrazolium Test*

Jerffeson Araujo Cavalcante<sup>1</sup>, Natali Almeida Evangelista Pereira<sup>2</sup>, Kilson Pinheiro Lopes<sup>3</sup>, Maurício Cavalcante de Novaes<sup>4</sup>, Anielson dos Santos Souza<sup>5</sup>

**RESUMO** – O teste de tetrázólio é um método rápido e eficaz para avaliação da qualidade fisiológica de sementes. O presente trabalho tem por objetivo estabelecer uma metodologia de pré-condicionamento de sementes de mamona para a avaliação da viabilidade e vigor pelo teste de tetrázólio. O trabalho foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes e Mudanças do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, campus Pombal – PB. Foram utilizados quatro lotes de sementes de mamona, BRS Nordestina, BRS Energia, IAC 80 e IAC Guarani. Para o pré-condicionamento do teste de tetrázólio, as sementes foram postas para embeber em papel germitest, umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, acondicionadas em câmaras do tipo BOD regulada a 30°C, durante um período de 18 horas. Após o período de embebição as sementes foram submetidas a três tipos de cortes: 1) Corte longitudinal mediano, no sentido do comprimento da semente, através do tegumento, endosperma e embrião; 2) Corte em bisel na região oposta a carúncula; 3) Remoção do tegumento e corte longitudinal mediano. Em seguida as sementes foram imersas em solução de tetrázólio a 0,1% e mantidas na ausência de luz no interior de câmara do tipo BOD regulada a 30°C, por um período de 6 horas. Os resultados obtidos foram comparados com o teste de germinação e emergência de plântulas. O corte longitudinal mediano, no sentido do comprimento da semente, através do tegumento, endosperma e embrião, favoreceu a avaliação da viabilidade e vigor das sementes de mamoneira.

**Palavras-chave:** Mamona, metodologia, viabilidade, vigor.

**SUMMARY** - The tetrazolium test is a fast and effective method for a evaluating the physiologic quality of seeds. This paper aims to establish a methodology for preconditioning castor seeds for evaluation of the viability and vigor by the tetrazolium test. The work was held at the Laboratory of Analysis of Seed and Seedling Center of Science and Agrifood Technology, Federal University of Campina Grande, Campus Pombal - PB. Four batches of castor seeds were used, Nordestina, BRS Energia, IAC 80 e IAC Guarani. For the tetrazolium test, the seeds are put to soak in germitest paper moistened with amount of equivalent to 2.5 times the weight of the dry paper wrapped type cameras BOD regulated at 30°C, over a period of 18 hours, after a period of soaking the seeds were subjected to three types of cuts: 1) longitudinal median along the length of the seed through the seed coat, endosperm and embryo, 2) coats and cut a distel on side of the caruncle; 3) Removal integument and longitudinal cut. The seeds were immersed in 0.1% tetrazolium and maintained in the absence of light inside chamber of the BOD type regulated at 30°C during a period of 6 hours. The results will be compared with the germination and seedling emergence. The results obtained were compared with the test germination and seedling emergence. The longitudinal cut along the length of the seed through the seed coat, endosperm and embryo, favored the assessment of the viability and vigor of seeds of castor bean.

**Keywords:** Castor bean, methodology, feasibility, force.

\*Autor para correspondência

Recebido em 10/10/2013 e aceito em 19/08/2014

<sup>1</sup> Graduando em Agronomia – UFCG/CCTA – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal-PB. E-mail: jerffeson000@hotmail.com

<sup>2</sup> Graduando em Agronomia – UFCG/CCTA – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal-PB. E-mail: natalipb@hotmail.com

<sup>3</sup> Eng. Agr. Dr. Sc., Professor Adjunto da Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias – UFCG/CCTA – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal-PB. E-mail: kilson@ccta.ufcg.edu.br

<sup>4</sup> Graduando em Agronomia – UFCG/CCTA – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal-PB. E-mail: mauro.novaes@hotmail.com.

<sup>5</sup> Eng. Agr. Dr. Sc., Professor Adjunto da Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias – UFCG/CCTA – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal-PB. E-mail: anielson@ccta.ufcg.edu.br

## INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma planta oleaginosa com importante papel socioeconômico para o Brasil, pois esta resiste a longos períodos de seca, além das questões de mão-de-obra e produção de matéria prima (AZEVEDO; BELTRÃO, 2007). Da semente de mamoneira é extraído óleo altamente solúvel em álcool com inúmeras aplicações na indústria, sendo usado na fabricação de plásticos, fibras sintéticas, tintas, esmaltes e principalmente o biodiesel. Na região Nordeste, a produção de biodiesel de mamona surgiu há pouco tempo como promissora alternativa para os pequenos produtores da região (SANTOS et al., 2001; FONSECA et al., 2004).

A alta competitividade no mercado agrícola, unida à constante busca por cultivos que apresentem cada vez maior rentabilidade e eficiência produtiva, faz do assunto qualidade fisiológica de sementes foco central na implantação de pesquisas, visando, dentre outros pontos, à minimização das condições as quais levam a maiores custos de produção e menores produtividades. Para tanto, o desenvolvimento de estudos que expressem a qualidade das sementes se fazem importantes, pois, uma vez estabelecidos, é possível obter informações sobre sementes de diferentes culturas (ALCALAY, 1988; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

A determinação do vigor tem evoluído à medida que os testes vêm sendo aperfeiçoados, em direção à obtenção de resultados reproduzíveis, constituindo base para tomada de decisões destinadas à manutenção do potencial fisiológico das sementes após a maturidade (RODO, 2002). Diante disso, os métodos para avaliar o vigor foram desenvolvidos através de trabalhos de pesquisa e paulatinamente vem sendo introduzidos na rotina de controle de qualidade de sementes (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO, 2001).

Entre os métodos disponíveis para avaliação da qualidade fisiológica de sementes destaca-se o teste de tetrazólio, que permite a obtenção rápida de resultados de viabilidade e vigor. Além disso, o teste de tetrazólio pode complementar resultados do teste de germinação de lotes com sementes dormentes ao final do teste e diagnosticar causas de deterioração (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

Em função do exposto, objetivou-se estabelecer uma metodologia de pré-condicionamento de sementes de mamoneira para a avaliação da viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Sementes e Mudanças do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, campus Pombal – PB. Foram utilizadas quatro lotes de sementes, representado pelas cultivares BRS Nordestina (Lote 1), BRS Energia (Lote 2), IAC Guarani (Lote 3) e IAC 80 (Lote 4) cultivadas no ano de 2012 no município de Pombal-PB, em sistema de monocultivo convencional.

As sementes foram avaliadas pelos teste de:

- *Determinação do grau de umidade*: realizada pelo método da estufa, a 105° C durante 24 horas, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), com resultados expressos em porcentagem (base úmida).

- *Teste de germinação*: conduzido segundo recomendações das Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009), em substrato papel tipo Germitest, na forma de rolo, umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do substrato seco. Os rolos foram acondicionados em sacos plásticos e mantidos em germinador a temperatura alternada de 20-30 °C, com fotoperíodo de 8 horas. A avaliação da porcentagem de germinação foi realizada a partir de contagens diárias de sementes germinadas, do 7° ao 14° dia após a semeadura, sendo os resultados expressos em porcentagem.

- *Primeira contagem de germinação*: determinado por meio da contagem de sementes germinadas no sétimo dia após instalação do teste de germinação, com resultados expressos em porcentagem (BRASIL, 2009).

- *Índice de velocidade de germinação (IVG)*: juntamente com o teste de germinação, efetuou-se contagens diárias de plântulas normais, do 7° ao 14° dia, empregando-se a fórmula proposta por Maguire (1962).

- *Emergência de plântulas*: foi realizado com quatro repetições de 25 sementes por lote, distribuídas em bandejas de plástico contendo como substrato a areia previamente autoclavada. As bandejas foram mantidas em ambiente protegido, sendo realizadas irrigações diárias com o intuito de manter a umidade do substrato. As avaliações foram realizadas diariamente, do 7° ao 14° dia após a semeadura, com a contagem de plântulas que emergiram e os resultados expressos em porcentagem de plântulas emergidas.

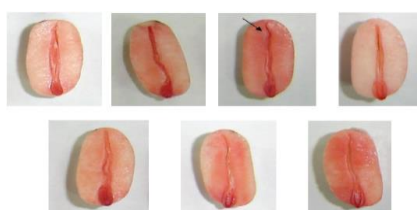
- *Índice de Velocidade de Emergência (IVE)*: foi realizado juntamente com o teste de emergência de plântulas, por meio de contagens diárias do número de plântulas com cotilédone visível acima do substrato e o resultado obtido segundo fórmula proposta por Maguire (1962).

- *Teste de Tetrazólio*: as sementes dos diferentes lotes de mamona foram postas para embeber em papel germitest, umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, durante um período de 18 horas, após o período de embebição as sementes foram submetidas a três tipos de cortes: 1) Corte longitudinal mediano, no sentido do comprimento da semente, através do tegumento, endosperma e embrião (BRASIL, 2009); 2) Corte distal na região oposta à carúncula (BRASIL, 2009); 3) Remoção do tegumento e corte longitudinal mediano (GRABE, 1976), apresentados na Figura 1. Em seguida, quatro repetições de 25 sementes de cada lote, submetidas aos diferentes cortes, foram imersas em solução de tetrazólio a 0,1% e mantidas na ausência de luz no interior de câmaras de germinação do tipo BOD regulada a temperatura constante de 30°C, por um período de 6 horas.



**Figura 1:** 1) Corte longitudinal mediano, no sentido do comprimento da semente, através do tegumento, endosperma e embrião; 2) Corte distal na região oposta à carúncula; 3) Remoção do tegumento e corte longitudinal mediano. CCTA/UFCG, Pombal – PB, 2013.

Após os corte e a embebição no sal de tetrazólio a 0,1 %, as sementes foram classificadas em três categorias: viáveis e vigorosas, viáveis e não vigorosas e não viáveis, de acordo com metodologia proposta por Oliveira et al., (2009), sendo apresentadas na figura 2, 3 e 4.



**Figura 2:** Sementes de mamoneira da categoria “viáveis e vigorosas” após coloração na solução de tetrazólio.



**Figura 3:** Sementes de mamoneira da categoria “viáveis” após coloração na solução de tetrazólio.



**Figura 4:** Sementes de mamoneira da categoria “não viáveis” após coloração na solução de tetrazólio.

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram transformados utilizando arco-seno.  $\sqrt{x/100}$  e submetidos a análise de variância. As medias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização da viabilidade e vigor dos quatro lotes de sementes de mamoneira estão representadas na Tabela 1. As sementes do lote 1, 2 e 4, não diferiram estatisticamente em todos os teste avaliados, sendo que as sementes do lote 2 apresentaram os maiores valores em todos os teste, exceto na primeira contagem de germinação. O lote 3 apresentou sementes menos vigorosas em relação aos demais lotes, apesar de não diferir dos demais lotes quanto à viabilidade avaliada a partir do teste de germinação (Tabela 1).

Na avaliação da umidade (Tabela 1), as sementes de todos os lotes apresentaram teor de umidade abaixo de 5,5%, estando dentro da faixa de umidade recomendado para o armazenamento da maioria das espécies de importância econômica, segundo instrução normativa 29/2011 do MAPA.

**Tabela 1** – Valores médios de Umidade (U), germinação (GER), primeira contagem de germinação (PCG), índice de velocidade de germinação (IVG), emergência (EMER) e índice de velocidade de emergência (IVE), dos diferentes lotes de sementes de mamoneira. CCTA/UFCG, Pombal – PB, 2013.

Lote	U (%)	GER (%)	PCG (%)	IVG	EMER (%)	IVE
1	4,86 b	95 a	93 a	3,36 a	97 a	2,94 ab
2	4,96 b	95 a	90 a	3,34 a	97 a	3,31 a
3	5,30 a	85 a	45 b	2,67 b	83 b	2,25 b
4	5,21 a	93 a	83 a	3,19 a	92 ab	3,02 ab
CV	6,2	5,4	12,0	6,4	5,1	13,6

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

Tomando como base o teste de tetrazólio na classificação dos lotes quanto a sua viabilidade e vigor apresentados na Tabela 2, observa-se que os lotes 1, 2 e 4

não diferiram entre si quando submetidas ao Corte 1, o contrário foi observado nas sementes submetidas ao corte 2, onde as sementes do Lote 4 apresentaram -se mais

vigorosas, seguido do lote 3, ainda para esse corte os lotes 1 e 2 não diferiram estatisticamente entre si.

Na tabela 2, verifica-se que entre os métodos de pré-condicionamento empregados, foi observado que a presença do tegumento não impediu a penetração da solução de tetrazólio na concentração utilizada, contudo, os resultados do teste apresentaram porcentagem inferior de sementes viáveis e vigorosas em relação aos testes indicados na Tabela 1. Porém, os resultados obtidos pelas sementes submetidas aos testes de viabilidade e vigor, mostraram-se coerentes ao valores obtidos pelas métodos de pré-condicionamento, aplicado aos diferentes lotes de sementes de mamoneira. Resultados contrários foram obtidos por Oliveira et al. (2005) em sementes de *Tabebuia* spp, que atribuíram à desuniformidade ou ausência de coloração à presença dos tegumentos.

O método de pré-condicionamento sem retirada do tegumento com corte longitudinal, possibilitou diferenciar os lotes de sementes de mamoneira. O Corte 2 não correspondeu aos resultados obtidos pelos testes de

emergência, IVE, germinação, primeira contagem e IVG, enquanto o Corte 1 refletiu comportamentos de viabilidade e vigor semelhantes aos testes comparativos apresentados na Tabela 1.

O insucesso do Corte 2 na avaliação do vigor e viabilidade das sementes de mamoneira, pode estar atribuído a não exposição adequada do embrião à solução de tetrazólio, tendo em vista que este procedimento é necessário para o desenvolvimento de uma coloração adequada, garantindo assim uma coloração apropriada das sementes

Oliveira et al. (2004), avaliando diferentes lotes de sementes de mamoneira pelo teste de tetrazólio, observaram que o corte em bisel na região oposta à carúncula, apresentaram percentuais de viabilidade e vigor inferiores em relação aos testes comparativos. No entanto, os resultados das sementes submetidas ao teste de tetrazólio, mostraram-se coesos aos valores obtidos pelas sementes submetidas aos testes de vigor e viabilidade.

**Tabela 2** – Resultados médios (%) dos testes de tetrazólio dos diferentes lotes de sementes de mamoneira submetidas a três tipos de cortes: Corte 1 ( corte longitudinal mediano, no sentido do comprimento da semente, através do tegumento, endosperma e embrião), Corte 2 (corte distal oposto à carúncula), Corte 3 (remoção do tegumento e corte longitudinal) e classificadas em viáveis e/ou vigorosas. CCTA/UFPG, Pombal – PB, 2013.

Lotes	Corte 1			Corte 2			Corte 3	
	Vigorosa	Viável	Não viável	Vigorosa	Viável	Não viável	Vigorosa	Viável
1	54 a	71 a	29 a	37 c	63 b	37 b	0	0
2	62 a	78 a	22 a	32 c	57 b	43 b	0	0
3	44 b	61 b	39 b	44 b	72 a	28 a	0	0
4	65 a	75 a	25 a	56 a	74 a	26 a	0	0
CV	9,04	10,75	8,96	6,62	11,08	10,32		

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade

Ainda na Tabela 2, o pré-condicionamento de sementes em que se realizou apenas a remoção do tegumento (Corte 3), resultou numa hidratação inadequada dos tecidos da semente, levando ao aparecimento de coloração desuniforme e manchas descoloridas no teste de tetrazólio, inviabilizando a sua classificação. Possivelmente, isto pode ter ocorrido devido as sementes de mamoneira terem sido submetidas a solução de tetrazólio sem um corte efetuado posteriormente à sua embebição ou pela presença da pedicula, que envolve o albúmen e apresenta uma grande concentração de óleo (AZEVEDO; BELTRÃO, 2007) a ponto de dificultar ou inibir a coloração dos tecidos vitais da sementes. Talvez, para este tratamento, fosse necessário um maior tempo de embebição das sementes ou até mesmo uma maior concentração da solução de tetrazólio.

Oliveira et al. (2009), avaliando diferentes métodos de preparo de sementes de mamoneira para o teste de tetrazólio, observaram que o corte longitudinal diagonal na região distal da carúncula evitando-se atingir o eixo embrionário e mediante remoção do tegumento as

sementes não apresentaram coloração na região central do tecido de reserva e no embrião. Somente as regiões periféricas das sementes, que tiveram contato direto com a solução de tetrazólio, ficaram coloridas.

De acordo Krzyzanowski et al., (1999), a escolha de metodologia adequada para o emprego do teste de tetrazólio deve se basear na facilidade para a diferenciação de tecidos viáveis e inviáveis e na capacidade de diferenciar lotes de qualidade fisiológica distintas. Desta maneira, o teste de tetrazólio utilizando o corte longitudinal mediano, no sentido do comprimento da semente, através do tegumento, endosperma e embrião pode ser usado como um complemento ao teste de germinação em sementes de mamoneira.

## CONCLUSÃO

O pré-condicionamento das sementes de mamoneira caracterizado pelo corte longitudinal mediano, no sentido do seu comprimento, através do tegumento,

endosperma e embrião, favoreceu a avaliação de sua viabilidade e vigor.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALACALAY, N. **Informações sobre tecnologia de sementes e viveiro florestal**. Porto Alegre: SSA, 1988. p.27.
- AZAVEDO, D. M. P.; BELTRÃO, N. E. M. **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2007, p. 505.
- BRASIL. Ministerio da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: CLAV/DNDV; SNAD/MA, 2009.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3. Ed. Campinas: Fundação Cargil, p.424. 2000.
- FONSECA, N.R.; MYCZKOWSKI, M.L.; PRIOR, M.; SÁ, R.O.; NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C.; ZANOTTO, M.D. **Testes de avaliação da viabilidade e do vigor em sementes de mamona**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA – Energia e Sustentabilidade, 1., Campina Grande, 23/26 nov. 2004. Anais... Campina Grande: Embrapa Algodão, p.07-12. 2004.
- GRABE, D.F. **Manual do teste de tetrazólio em sementes**. Brasília, DF: AGIPLAN, p. 86.1976.
- KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B. Vigor de Sementes. Informativo **ABRATES**, Londrina, V.11, n.3, p.81-84, 2001.
- KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D; FRANÇA NETO, J. B. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: **ABRATES**, p.218.1999.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence vigor. **Crop Science**, v.2, p.176-177. 1962.
- NOVEMBRE, A.D.L.C.; CHAMMA, H.M.C.P.; GOMES, R.B.R. Viabilidade das sementes de braquiária pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.2, p.147-151, 2006.
- OLIVEIRA, C. M. G.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Concentração da solução de tetrazólio e período de coloração do teste para sementes de mamoneira. **Revista Brasileira de Sementes**, vol.31, nº3, p.038-047, 2009
- OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; NERY, M.C. Teste de tetrazólio em sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley – Bignoniaceae. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.36, n.2, 2005.
- OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO M. L. M.; CALDEIRA, C. M.; SILVA, C. D.; SILVA, D. G. **Testes de tetrazólio em sementes de mamona**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA – Energia e Sustentabilidade, 1., Campina Grande, 23/26 nov. 2004. Anais... Campina Grande: Embrapa Algodão, p.07-12. 2004.
- RODO, B. A. **Avaliação do potencial fisiológico de sementes de cebola e sua relação com o desempenho das plântulas em campo**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 133p. 2002. Tese (Doutorado).
- SANTOS, R. F.; BARROS, M. A. L.; MARQUES, F. M.; FIRMINO, P. T.; REQUIÃO, L. E. G. **Análise econômica**. In: AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, E. F. (Ed.). *O agronegócio da mamona no Brasil*. Campina Grande: Embrapa Algodão, p.17-35. 2001.