



COMUNICADO TÉCNICO

Nº 51, CNPGC, setembro/92, p.1-2

PREPARO DE SOLUÇÕES NEUTRAS DE TETRAZÓLIO

Francisco Humberto Dübbert de Souza¹

O teste bioquímico de vitalidade, mais comumente conhecido pelo nome de "teste de tetrazólio", alcançou enorme popularidade entre os envolvidos com a produção e a comercialização de sementes de plantas forrageiras, em particular de gramíneas. Este teste permite estimar em poucas horas a viabilidade das sementes. Muitas vezes, entretanto, os resultados obtidos entre e dentro laboratórios, são variáveis. Em muitos casos, a alta acidez da solução de tetrazólio pode ser uma causa importante destas variações.

Um dos requisitos à obtenção de resultados confiáveis com este teste é a utilização de soluções aquosas de cloreto de tetrazólio que não sejam ácidas. Idealmente, o pH destas soluções deve situar-se na faixa de 6 a 8. Frequentemente, entretanto, soluções preparadas apenas com água destilada são ácidas, isto é, apresentam pH menor que estes valores. Em consequência, a coloração dos embriões ocorre de forma inadequada, causando interpretações errôneas do estado de viabilidade das sementes. O pH das soluções depende fundamentalmente da qualidade da água utilizada no seu preparo.

Este problema pode ser evitado mediante o uso de uma "solução tampão de fosfato" no preparo de tetrazólio, que assegura a manutenção do pH dentro da faixa aceitável.

Os procedimentos para a obtenção de soluções neutras de tetrazólio são os seguintes:

1. Dissolver 3,63 g de fosfato de potássio (K_2PO_4) em 400 ml de água destilada.
2. Em outro frasco, dissolver 7,13 g de fosfato monoácido de sódio bihidratado ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) ou 10,73 g de fosfato monoácido de sódio heptahidratado ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$), em 600 ml de água destilada.

¹Eng.-Agr., Ph.D., CREA Nº 46756-D - Visto 1247/MS, EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC), Caixa Postal 154, 79002-970 Campo Grande, MS.

CT-51, setembro/92, p.2

3. Após a completa dissolução destes sais, as duas soluções devem ser misturadas, com o que obtém-se 1 litro do que se chama "solução tampão de fósforo".
4. Esta solução tampão deve ser colocada em frasco de vidro escuro (nunca em frasco de metal) e nela devem ser dissolvidos 10 g do sal de tetrazólio. Com isto, obtém-se 1 litro de "solução estoque" neutra, a 1%, que, preferivelmente, deve ser mantida em geladeira.
5. No caso das sementes de gramíneas forrageiras, não há necessidade de se utilizar uma solução tão concentrada como a solução estoque; uma solução de trabalho a 0,1% é suficiente na maioria das vezes. Assim, a partir da solução estoque podem ser preparadas as chamadas "soluções de trabalho" que são aquelas utilizadas no dia-a-dia do laboratório de sementes.
6. Para se obter 1 litro desta solução, mistura-se 100 ml da solução estoque a 1% com 900 ml de solução tampão. A solução de trabalho também deve ser mantida em frasco de vidro escuro.
7. Vale lembrar que as sementes cortadas submetidas ao teste do tetrazólio devem ser totalmente cobertas pela solução. Durante o período de coloração, o frasco contendo as sementes cortadas e a solução deve ser mantido no escuro; ao término deste período, a solução deve ser drenada e descartada e não deve, portanto, ser reutilizada.
8. Em laboratórios onde um número relativamente pequeno de amostras são analisadas, um volume menor da solução tampão pode ser preparado, obedecendo-se as devidas proporções de sais e de água. Entretanto, para a obtenção da solução de trabalho a 0,1%, os procedimentos são os mesmos acima descritos. Eventuais sobras do sal podem ser mantidas dentro da embalagem original, em refrigerador.
9. No preparo da solução de tetrazólio, o analista deve equipar-se com luvas e máscara.

LITERATURA CONSULTADA

AOSA. **Manual do teste do tetrazólio em sementes**. Brasília : AGIPLAN, 1976. 85p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Vegetal. Coordenação de Laboratório Vegetal (Brasília, DF). **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365p.

MARCOS-FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba : FEALQ, 1987. 230p.

Tiragem: 800 exemplares