

COMPARAÇÃO DO VIGOR E DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE FEIJÃO COMUM PELOS TESTES DE GERMINAÇÃO EM PAPEL E TETRAZÓLIO

LÍVIA TEIXEIRA DUARTE¹, MURILLO LOBO JUNIOR²

INTRODUÇÃO: As sementes de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) são altamente sensíveis às condições ambientais e ao manejo durante as fases de colheita, beneficiamento e armazenamento apresentando, muitas vezes, baixa qualidade fisiológica. Desse modo, é recomendado que os laboratórios de análise de sementes disponham de métodos confiáveis para avaliação rápida e eficiente da qualidade fisiológica dessas sementes (BHERING et al., 1999). Dentre os testes para avaliação do vigor e viabilidade de sementes de feijão comum destacam-se os testes de germinação e tetrazólio. A germinação de sementes em teste de laboratório consiste na emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma planta normal sob condições favoráveis de campo (BRASIL, 2009). Neste teste, pode-se determinar o vigor através da primeira contagem do teste de germinação, com base no princípio de que as amostras que apresentam maior percentagem de plântulas normais são as mais vigorosas (NAKAGAWA, 1999). No teste de tetrazólio, por sua vez, as sementes são embebidas em uma solução incolor de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio que é usada como um indicador para revelar o processo de redução do oxigênio que acontece dentro das células vivas. Por meio desta reação, pode-se estimar o vigor, determinar a viabilidade, e diagnosticar danos por secagem, por insetos e por umidade bem como, detectar danos mecânicos de colheita e/ou beneficiamento das sementes. Neste processo, os íons de H⁺ liberados durante a respiração dos tecidos interagem com o tetrazólio, o qual é reduzido a um composto vermelho, estável e não difusível chamado de trifenil formazan. Como esta reação se processa no interior das células vivas e o composto não se difunde, há nítida separação dos tecidos vivos e coloridos que respiram, daqueles mortos que não colorem (BRASIL, 2009). Tendo em vista que há poucos relatos na literatura que comparem metodologias para a determinação da qualidade fisiológica de sementes de feijão, objetivou-se com este trabalho comparar o vigor e a viabilidade de sementes de feijão comum e determinar as causas de baixo vigor de sementes, utilizando-se os testes de germinação em papel e de tetrazólio.

MATERIAL E MÉTODOS: O experimento foi conduzido no Laboratório de Qualidade de Sementes da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás - GO, com 32 amostras de sementes de feijão de diversas linhagens e cultivares. Para a realização do teste de germinação em papel, utilizou-se 200 sementes por amostra, subdivididas em quatro repetições de 50 sementes cada. Foram colocadas duas folhas de papel germitest umedecido abaixo das sementes e uma acima, cobrindo as mesmas. A seguir enrolou-se o conjunto e os rolos foram posicionados verticalmente em germinador do tipo Mangelsdorf regulado à temperatura de 25 °C ± 2°C, e alta umidade relativa, durante todo o período do teste (BRASIL, 2009). A primeira contagem do teste de germinação, aos quatro dias, foi utilizada para determinação do vigor das sementes. Para determinação da germinação, a leitura foi realizada aos nove dias após a semeadura. Ao final do período de incubação foram avaliadas as porcentagens de plântulas normais, anormais e sementes dormentes ou mortas (BRASIL, 2009). Paralelamente, foi realizado o teste de tetrazólio para avaliar o vigor, a viabilidade, e determinar possíveis causas de deterioração das sementes. Esse teste foi conduzido com duas repetições de 50 sementes, pré-condicionadas em papel germitest umedecido durante 24 horas à temperatura de 25 °C. A seguir, as sementes foram submersas em solução a 0,1% de cloreto de trifenil tetrazólio (Sigma-Aldrich, Steinhein, Germany), em germinador de sementes à temperatura de 40 °C, por 3 horas (BRASIL, 2009). Após a etapa de coloração, as sementes foram seccionadas uma a uma de forma longitudinal e medianamente através do embrião, para posterior avaliação. A avaliação foi realizada a partir da

¹ Farmacêutica, Analista, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, livia@cnpaf.embrapa.br

² Engenheiro Agrônomo, Pesquisador, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, murillo@cnpaf.embrapa.br

observação das superfícies externa e interna dos cotilédones para a identificação de danos mecânicos, deterioração por umidade e danos causados por percevejos (Figura 1). Cada semente foi classificada como viável e vigorosa (classes de 1 a 3), viável e não vigorosa (classes de 4 a 5) ou não viável (classes de 6 a 8), conforme Bhering et al. (1999). Posteriormente, foram estimadas as porcentagens das sementes classificadas em cada classe de viabilidade e vigor, e calculou-se o potencial de germinação e o vigor. As médias dos resultados de vigor e viabilidade obtidas por ambos os testes foram comparadas pelo teste T a 5% de probabilidade. Determinou-se ainda os valores máximos e mínimos e o desvio padrão. Para determinar a relação entre viabilidade de sementes e causas importantes de perda de vigor, foi realizada análise de regressão, após serem eliminados os menores valores nos casos em que mais de uma causa de deterioração foi detectada na amostra. As sementes também foram classificadas de acordo com as porcentagens de danos mecânicos, deterioração por umidade e danos de percevejo nas classes 6-8 (TZ 6-8), conforme descrito por França Neto *et al.*, 1998. Uma vez que as porcentagens de danos nestas classes indicam a porcentagem de perda de viabilidade, as porcentagens de danos foram consideradas sem restrição quando inferiores a 6%, um problema sério quando entre 7% e 10% e um problema muito sério quando superiores a 10% (FRANÇA NETO *et al.*, 1998).

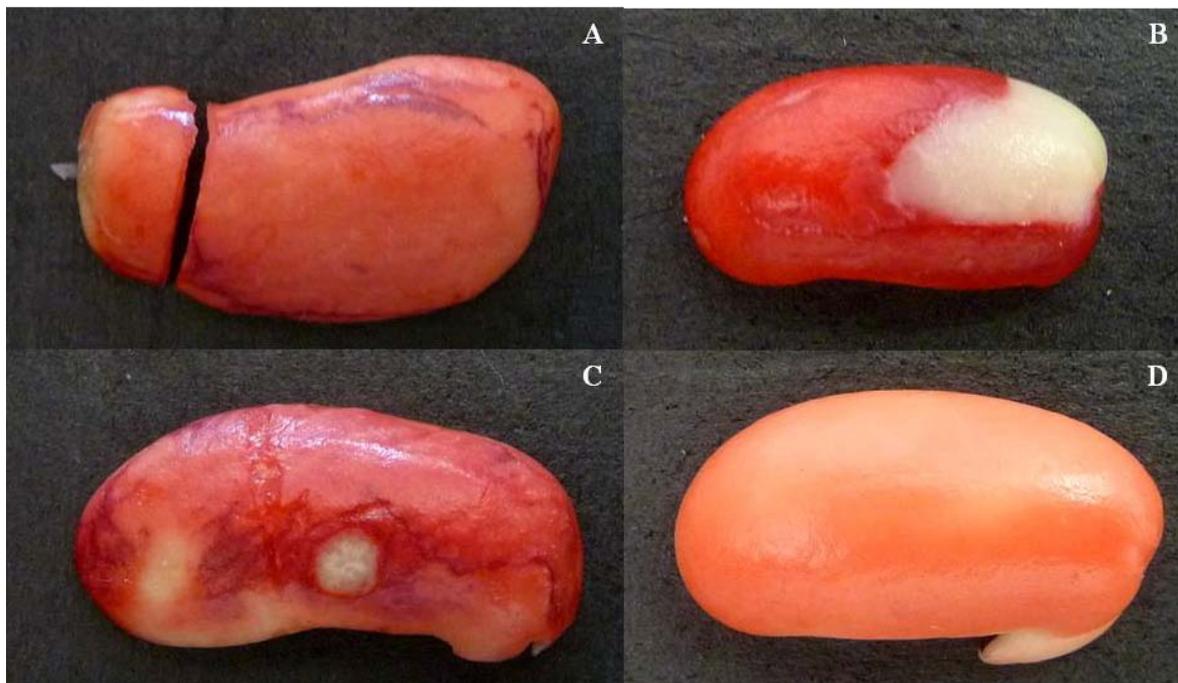


Figura 1. Sementes de feijão comum após o teste de tetrazólio, evidenciando danos mecânicos (A), deterioração por umidade (B), danos por percevejo (C) e sementes viáveis sem danos (D). A coloração branca em partes das sementes indica tecido morto, e o vermelho intenso, tecidos em deterioração.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O vigor médio encontrado nas amostras analisadas foi de 60%, tanto pelo teste de germinação quanto pelo teste de tetrazólio, verificando-se, deste modo, que as duas metodologias não diferiram entre si ($p > 0,05$) para determinação do vigor (Figura 2A). Com relação à viabilidade das sementes, as porcentagens encontradas foram de 65% no teste de germinação e 74% no teste de tetrazólio. Verificou-se, neste caso, que existe diferença ($p < 0,05$) entre os métodos empregados para a determinação da viabilidade de sementes de feijão (Figura 2B). Observou-se que o teste de tetrazólio superestimou a viabilidade das amostras testadas, quando comparado com o teste de germinação em papel, uma vez que a determinação tanto da viabilidade quanto do vigor pelo referido teste constitui uma estimativa da sua potencialidade, não se obtendo valores a partir do crescimento das plântulas. O processo de germinação ocorre pela ação de fatores de natureza interna (ocorrência de danos na semente) e externa (temperatura, água e oxigênio) e, através do teste de tetrazólio, avaliam-se

somente os fatores de natureza interna. No caso da ocorrência de sementes dormentes, por exemplo, no teste de tetrazólio estas são classificadas como sementes viáveis, desde que não apresentem danos de nenhuma natureza, superestimando assim os resultados de viabilidade. No entanto, quando submetidas ao teste de germinação em papel, mesmo sob condições favoráveis, as sementes dormentes deixam de germinar, não sendo classificadas como sementes viáveis e subestimando a viabilidade das amostras.

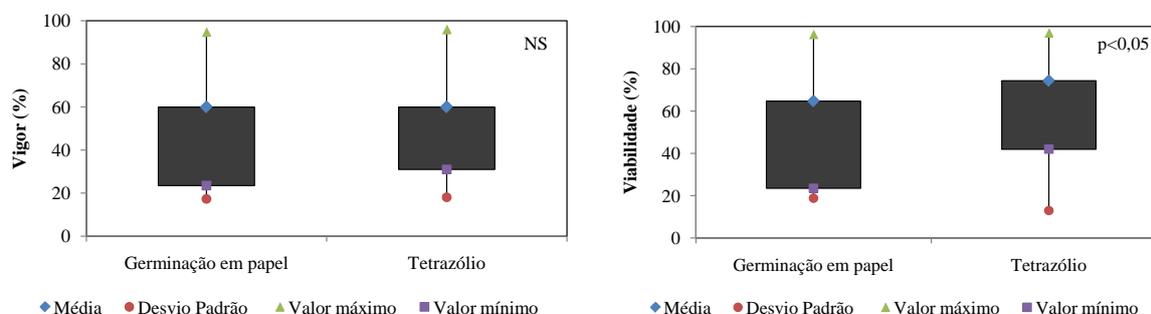


Figura 2. Determinação do vigor (A) e da viabilidade (B) das sementes de feijão comum avaliadas pelos testes de germinação em papel e tetrazólio. NS = Não significativo; $p<0,05$ = significativo ao nível de 5%.

A Tabela 1 apresenta as porcentagens médias de danos mecânicos, deterioração por umidade e danos por percevejos obtidas através do teste de tetrazólio realizado nas 32 amostras analisadas.

Tabela 1.- Porcentagens médias de danos mecânicos, deterioração por umidade e danos por percevejos obtidas através do teste de tetrazólio realizado nas 32 amostras de feijão analisadas.

Classes*	Dano mecânico (%)		Deterioração por umidade (%)		Dano por percevejos (%)	
	TZ 1-8	TZ 6-8	TZ 1-8	TZ 6-8	TZ 1-8	TZ 6-8
Média \pm D.P	9,6 \pm 8,1	3,2 \pm 4,2	47,3 \pm 25,3	19,3 \pm 12,4	6,9 \pm 4,5	0,5 \pm 0,8
Valor máximo	36,0	22,0	88,0	50,3	17,0	2,0
Valor mínimo	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0

*Classes de viabilidade e vigor, em que a classe TZ 1-8 indica a porcentagem total de danos ocorridos nas sementes e a classe TZ 6-8 indica a porcentagem de danos que resultaram na perda da viabilidade das sementes.

De acordo com França Neto et al.,1998, as porcentagens de danos mecânicos, deterioração por umidade e danos de percevejos nas classes de 6 a 8, indicam a porcentagem de perda de viabilidade ocasionada pelos referidos danos. Se as porcentagens de danos estiverem entre 7 e 10% indicam um problema sério e se forem superiores a 10%, indicam um problema muito sério de qualidade da semente. Se um problema sério ou muito sério for diagnosticado pelo analista de sementes através do teste de tetrazólio, uma ação corretiva pode ser adotada, para melhorar a qualidade das sementes produzidas. No presente trabalho, observou-se a ocorrência de um problema muito sério de deterioração por umidade, que prejudicou a viabilidade das sementes. Os resultados mostraram uma relação inversamente proporcional entre viabilidade (TZ 1-5) e deterioração por umidade (TZ 6-8), não demonstrada para outras variáveis (Figura 3). Considerando-se que lotes de sementes podem apresentar diferentes graus de deterioração, não revelados em testes de germinação em papel, há sérias dificuldades para identificar diferenças entre o potencial de armazenamento de lotes com poder germinativo semelhante (FRANÇA NETO, 1999). O teste de tetrazólio, além de ser um teste que permite uma rápida avaliação da qualidade das sementes, também possibilita a avaliação da viabilidade e do vigor, fornecendo informações valiosas sobre o valor das sementes, para fins de semeadura. Segundo Bhering et al.,1999, os resultados do teste de tetrazólio podem diferir dos resultados obtidos em condições de campo mas, normalmente, os altos valores obtidos no teste de

tetrazólio têm correspondido à elevada germinação das sementes no campo. No presente trabalho, o teste de tetrazólio permitiu a identificação dos fatores que influenciam a qualidade das sementes, como danos mecânicos, danos ocasionados por insetos e deterioração por umidade e por isso deve ser utilizado juntamente com o teste de germinação para avaliação da qualidade das sementes.

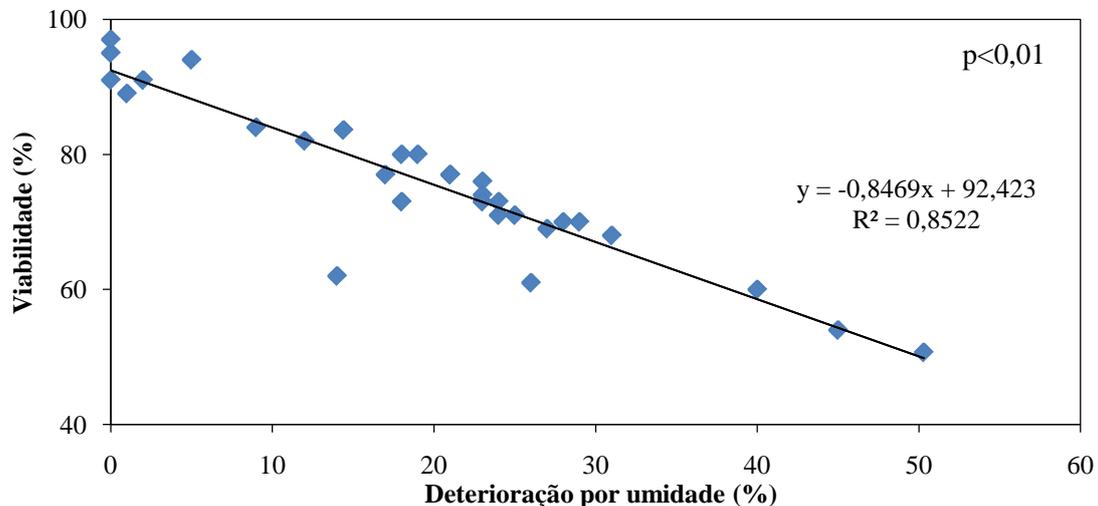


Figura 3. Análise de correlação entre deterioração por umidade (TZ 6-8) e viabilidade (TZ 1-5) nas 32 amostras de feijão analisadas.

CONCLUSÕES: Não houve diferença entre a determinação do vigor pelos testes de germinação em papel e tetrazólio. Apesar do teste de tetrazólio ter superestimado a viabilidade das amostras de feijão quando comparado com o teste de germinação, este teste foi importante para determinação dos tipos de danos que causaram a perda de viabilidade das sementes. Dentre as amostras analisadas, os danos causados por umidade foram as causas mais frequentes de baixo vigor.

REFERÊNCIAS

BHERING, M. C.; SILVA, R. F.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, D. C. F. S. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de feijão. In: KRYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. P.8.3-1 - 8.3-10.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p.

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: ABRATES, 1999. p.8-1 - 8-7.

FRANÇA NETO, J. B.; KRYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. da. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1998. 72 p.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. P.2-1 - 2-24.