

Metodologias do Teste de Tetrazólio para Sementes de Melão (*Cucumis melo* L.)

Cristina Batista de Lima¹, Nair Mieko Takaki Bellettini¹, Jamile Kassem Janani², Aline Sardinha da Silva², Talita Silveira Amador², Marcela Aparecida Vaz Vieira² e Ana Paula Cheirubim²

Introdução

Os lotes de sementes são considerados valiosos quando apresentam alta porcentagem de viabilidade [1], o teste de tetrazólio fornece essa informação de forma rápida e segura, se executado corretamente. Nesse teste, o sal usado é reduzido devido a reações enzimáticas das sementes, a formazan, que é uma substância vermelha e não difusível, colorindo as células com atividade metabólica [2].

O pré-condicionamento é a etapa mais longa do teste. Costa *et al.* [3] em sementes de soja e Barros *et al.* [4] em sementes de abobrinha, aumentaram para 40 °C a temperatura, reduzindo consideravelmente o tempo gasto nessa fase.

A velocidade de coloração, temperatura e concentração da solução de tetrazólio variam de acordo com a espécie estudada, podendo influenciar no resultado final do teste. A temperatura de 30 °C é indicada na coloração de todas as espécies [2], porém Barros *et al.* [4] recomendam a temperatura de 40 °C como ideal para sementes de abobrinha. No tocante a concentração da solução, Moore [5] e Brasil [2] indicam a amplitude de 0,1 a 1,0%. Outro fator que deve ser analisado é o tempo de exposição, uma vez que, períodos prolongados desenvolvem coloração intensa, fazendo com que tais sementes sejam descritas como velhas e deterioradas [1].

Esse teste não precisa ser interpretado imediatamente, em caso de necessidade sua avaliação pode ser deixada para o dia seguinte, desde que as sementes sejam lavadas, mantidas em baixa temperatura no escuro [1].

Na literatura consultada não há referências do teste de tetrazólio em sementes de melão. As Regras para Análise de Sementes indicam a mesma metodologia para todas cucurbitáceas. Deluche *et al.* [1] afirmam que o método utilizado em sementes de melancia, pode ser aplicado para outras espécies dessa família.

O objetivo desse trabalho foi comparar metodologias do teste de tetrazólio, na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melão (*Cucumis melo* L.).

Material e métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal da Fundação Faculdades “Luiz Meneghel” (FFALM). Foram utilizados três lotes de sementes de melão (*Cucumis melo* L.) da cultivar Caipira, adquiridos no comércio local.

As sementes foram avaliadas pelos testes de: (a) **germinação (GL)** - realizado com quatro repetições de

50 sementes distribuídas sobre papel filtro umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes, o peso do substrato seco. A seguir, foram confeccionados rolos mantidos em germinador a 25°C. As avaliações foram realizadas no 4º e 8º dias após a semeadura, seguindo os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes [2]; (b) **emergência de plântulas em solo (ES)** - foi conduzido em casa de vegetação, utilizando-se bandejas de isopor com 200 células, preenchidas com substrato da marca comercial “plantmax”, com quatro repetições de 50 sementes cada. As bandejas foram irrigadas diariamente. As avaliações foram realizadas no 14º dias após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas emersas por lote; (c) **envelhecimento acelerado (EA)** - Uma camada de 200 sementes foi colocada sobre uma tela metálica, acoplada em caixa plástica tipo “gerbox”, contendo ao fundo, 40 mL de solução saturada de sal (100 mL de água destilada e 40 gramas de NaCl), conforme o proposto por Jianhua e McDonald [6]. Os gerbox foram mantidos sob temperatura de 41°C, durante 180 horas. Após esse período, quatro subamostras de 50 sementes foram avaliadas pelo teste de germinação; (d) **teste de tetrazólio:** foram avaliadas quatro técnicas, duas (A e B) de acordo com as Regras para Análise de Sementes [2]. A **metodologia A** consistiu de pré-condicionamento das sementes através de imersão em água destilada, durante 18 horas, sob temperatura ambiente. Posteriormente, as sementes foram cortadas longitudinalmente através da metade distal dos cotilédones e colocadas em solução de tetrazólio [(1 %), por 24 horas a 30 °C], lavadas e mantidas submersas em água destilada, até o momento da avaliação. A **metodologia B se diferenciou** da A no pré-condicionamento, realizado em rolo de papel filtro. Na **metodologia C** as sementes foram imersas em água destilada a 40 °C por 30 minutos, para retirada do tegumento. Em seguida, esse procedimento foi repetido para retirada da membrana, que envolve o embrião. Depois as sementes foram cortadas com estilete, na extremidade lateral, colocadas em solução a 0,05% (por 1 hora, a 40 °C), lavadas e mantidas em água destilada até o momento da avaliação [1]. Por último, a **metodologia D** foi semelhante a B, exceto pela concentração da solução (0,05%).

As sementes foram classificadas em alto vigor (germinam formando plântulas normais e vigorosas), baixo vigor (germinam formando plântulas normais), mortas (não germinam) e inviáveis (germinam formando plântulas anormais). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições de 50 sementes cada. Os dados obtidos em

1. Docentes titulares do Depto. de Produção Vegetal da FFALM, Fundação Faculdades “Luiz Meneghel”, BR 369 Km 45 C.P. 261, Bandeirantes-PR, 86360-000. crislima@ffalm.br

2. Estagiária do Depto. de Produção Vegetal da FFALM.

percentual foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

Resultados e discussão

Os resultados observados no teste de germinação e emergência em solo não permitiram separar os três lotes analisados. Entretanto o teste de envelhecimento acelerado apontou o lote 2 como o de maior e o 1 como o de menor qualidade fisiológica (Tab. 1).

Em relação ao teste de tetrazólio, pode se verificar que a metodologia utilizada influencia no resultado obtido. Um lote pode ser interpretado como vigoroso em uma metodologia e de baixo vigor em outra (Tab. 2). A coloração das sementes variou de acordo com a concentração da solução utilizada, sendo que os tons claros foram observados na menor concentração. As sementes que apresentaram coloração vermelho brilhante foram consideradas de alto vigor, as vermelho carmim de baixo vigor, as brancas e as vermelhas carmim forte como mortas, e as que coloriram apenas os cotilédones inviáveis (Fig. 1).

As metodologias B e D diferenciaram os lotes e indicaram o lote 2 como o mais vigoroso, de modo semelhante ao verificado no teste de envelhecimento acelerado, portanto, o pré-condicionamento em rolo de papel foi apropriado para essa espécie. Esse resultado concorda com o recomendado por França Neto *et al.* [7], para sementes de soja. Copeland *et al.* [8], comentam que o pré-condicionamento constitui uma das etapas críticas do teste, sendo que a absorção lenta de água é extremamente desejável e necessária, para prevenir fraturas de partes do embrião e estimular a atividade enzimática, que é um dos pré-requisitos do processo respiratório.

Na metodologia A, a imersão em água e o tempo de contato com a solução, podem ter favorecido o desenvolvimento da coloração vermelho carmim forte, interpretadas como mortas. Sementes que absorvem água por um longo período colorem intensamente [1].

Na metodologia C, a ausência do corte pode ter influenciado na coloração obtida, dificultando a difusão da solução de tetrazólio. Grabe [9] relata que para sementes não seccionadas no pré-condicionamento, a concentração da solução deve ser 1,0%. Souza [10]

reduziu o tempo do teste de tetrazólio em tomate para 3 horas em sementes cortadas.

O tempo de exposição da semente e a concentração da solução de tetrazólio foram inversamente proporcionais. Além disso, segundo Vieira & Pinho [11] temperaturas superiores a 30°C, durante a exposição podem duplicar a velocidade de reação e diminuir o período necessário para avaliação, entretanto, ao mesmo tempo aumentam a quantidade de sementes consideradas inviáveis. Esse fato pode explicar os resultados satisfatórios obtidos na metodologia D, que se destacou sendo a mais indicada para a espécie estudada.

Referências

- [1] DELOUCHE, J.C.; STILL, T.W.; RASPET, M. & LIENHARD, M. 1976. *O teste de tetrazólio para viabilidade da semente*. Brasília: AGIPLAN. 103p.
- [2] BRASIL. 1992. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Coordenação de Laboratório Vegetal. Departamento Nacional de Defesa Vegetal. *Regras para análise de sementes*. Brasília. 365p.
- [3] COSTA, N.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. & PEREIRA, J.E. 1998. Avaliação de metodologia alternativa para o teste de tetrazólio para sementes de soja. *Scientia Agrícola*. 55: 302-312.
- [4] BARRROS, D. I.; DIAS, D. C. F. S.; BHERING, M. C.; DIAS, L. A. S. & ARAÚJO, E. F. 2005. Uso do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de abobrinha. *Revista Brasileira de Sementes*. 27: 165-171.
- [5] MOORE, R.P. 1985. *Handbook on tetrazolium testing*. Zürich: ISTA. 99p.
- [6] JIANHUA, Z. & McDONALD, M.B. 1996. The salturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. *Seed Science and Technology*. 25: 123-131.
- [7] FRANÇA NETO, J. B.; PEREIRA, L. A. G.; COSTA, N.P.; KRZYZANOWSKI, F.C. & HENNING, A. A. 1988. *Metodologia do teste de tetrazólio em semente de soja*. Londrina: EMBRAPA-CNPSo. 60p.
- [8] COPELAND, T. G.; BRUCE, C. F. & MIDYETT JUNIOR, Y. W. 1959. The unofficial application of tetrazolium tests as an aid in checking germination cains. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*. 49: 134-141.
- [9] GRABE, D.F. *Manual do teste de tetrazólio em sementes*. Brasília: AGIPLAN, 1976. 85p.
- [10] SOUZA, M.A. P. 2003. *Avaliação do potencial fisiológico de sementes de tomate através do teste de tetrazólio*. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Piracicaba-SP. 79p.
- [11] VIEIRA, M.G.G.C. & VON PINHO, E.V.R. 1999. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D. & FRANÇA NETO, J.B. (Eds.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES. 164p.

Tabela 1. Médias dos testes de germinação em laboratório (GL), emergência de plântulas em solo (ES), e envelhecimento acelerado (EA) obtidas em sementes de melão (*Cucumis melo* L.).

LOTES	GL	ES	EA
1	95,0ABa ¹	88,5Aa	58,5Cc
2	99,0Aa	81,5Bcd	91,0Aa
3	90,5Bab	89,5Aa	78,0Bbc

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Viabilidade e caracterização fisiológica (médias percentuais), de sementes de melão (*Cucumis melo* 2 L.), submetidas a quatro diferentes metodologias para o teste de tetrazólio.

Sementes	Lote	Metodologia			
		A	B	C	D
Alto Vigor	1	64,5Aa ¹	45,0Ba	0,0Aa	37,0Ba
	2	55,0ABb	93,0Aa	0,0Ac	93,5Aa
	3	30,0Bb	65,5ABa	0,7Ab	90,0Aa
C.V.		35,2%			
Baixo Vigor	1	6,5Bb	0,0Ab	0,0Ab	63,0Aa
	2	0,0Ba	0,0Aa	0,0Aa	2,5Ba
	3	17,0Aa	0,0Ab	0,0Ab	9,0Bab
C.V.		65,6%			
Mortas	1	5,0Bb	0,0Ab	85,5Ba	0,0Ab
	2	44,0Ab	0,0Ac	97,0Aa	2,0Ac
	3	0,0Bb	0,0Ab	92,5ABa	2,0Ab
C.V.		15,4%			
Inviáveis	1	24,0ABab	55,0Ab	14,5Ab	0,0Ab
	2	1,0Bb	7,0Bb	3,0Ab	2,0Ab
	3	55,0Aa	34,5ABab	6,75Abc	0,0Ac
C.V.		104,5%			

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; C.V. = Coeficiente de variação. Alto vigor = coloração vermelho brilhante; Baixo vigor= vermelho carmim; Mortas= branco e vermelho carmim forte; Inviáveis= coloriram apenas os cotilédones.



Figura 1. Teste de tetrazólio em sementes de melão caracterizando sementes mortas (A e B), inviáveis (C, D e E), baixo vigor (F) e alto vigor (G).