

ADEQUAÇÃO DA METODOLOGIA DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Melanoxylon brauna* Schot.

Viviana Borges Corte¹, Eduardo Euclides de Lima e Borges², Bárbara Luiza Corradi Pereira³

(recebido: 18 de maio de 2009; aceito: 30 de junho de 2010)

RESUMO: Conduziu-se este trabalho, com o objetivo de adequar a metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Melanoxylon brauna*. As sementes foram pré-condicionadas por imersão em água destilada a 25°C, por 14 horas. O tegumento foi retirado e os embriões colocados submersos em solução de tetrazólio (pH 6,5) nas concentrações de 0,05, 0,1 e 0,3%, sendo mantidos no escuro à temperatura de 25°C por 10 e 24 horas. Os embriões foram avaliados quanto à intensidade da coloração, presença de áreas leitosas, aspectos dos tecidos e localização da coloração. Os embriões foram classificados individualmente em 9 classes de viabilidade. As sementes também foram submetidas aos testes de germinação e emergência de plântulas. Os tratamentos que mais se aproximaram do teste padrão de germinação de sementes de *M. brauna* foi a concentração de 0,3 por 10 horas. A viabilidade é representada pelas classes 1, 2 e 3, caracterizadas pela coloração rósea do embrião.

Palavras-chave: Germinação, sementes florestais, embrião.

ADJUSTMENT OF TETRAZOLIUM METHODOLOGY FOR THE EVALUATION OF *Melanoxylon brauna* SEEDS VIABILITY

ABSTRACT: The objective of this work was to adjust the tetrazolium test methodology to *Melanoxylon brauna* seeds. The seeds were pre-conditioned by immersion in distilled water at 25°C for 24 hours. The tegument of the seeds were removed and the embryos were submerged in the tetrazolium solution (pH 6.5) at concentration of 0.05, 0.1 and 0.3%, and were kept in the dark at 25°C temperature for 10 and 24 hours. The embryos were evaluated for the intensity of color, presence of milky areas, aspect of the tissues, and location of the color. The embryos were individually classified into nine viability classes. They were also submitted to the germination and seedling emergence tests. The best correlations between the standard tests of seed germination of *Melanoxylon brauna* were those with 0.3% concentration for 10 hours. The viability is represented by classes 1, 2 and 3.

Key words: Germination, forest seeds, embryo.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de sementes de alta qualidade são fatores básicos para o sucesso na produção de mudas e implantação de povoamentos florestais com espécies nativas. Para isso, o sistema de controle de qualidade na indústria de sementes deve ser ágil, versátil e confiável, fornecendo resultados precisos e rápidos, com resultados que avaliem a qualidade fisiológica das sementes por períodos mais curtos (FRANÇA NETO et al., 1998).

O teste do tetrazólio tem por objetivo determinar rapidamente a viabilidade das sementes, particularmente daquelas que possuem germinação lenta ou que não germinam após o teste de germinação por estarem dormentes (BRASIL, 1992). Esse teste tem assumido

posição de destaque para algumas culturas, em razão do grande número de informações fornecidas, e por ser uma técnica rápida e pouco dispendiosa (KRYZANOWSKI et al., 1999).

Sabe-se que o tempo de incubação, a concentração da solução e a avaliação adequada do teste são fundamentais para que se obtenham resultados confiáveis da viabilidade e vigor (OLIVEIRA et al., 2005). A metodologia do teste vem sendo aprimorada, principalmente para sementes cultivadas (KRYZANOWSKI et al., 1999), mas, para espécies florestais, os estudos e a padronização do método ainda são poucos, embora tenha havido aumento nas publicações nos anos mais recentes, com aplicações diversas. Assim, Mendes et al. (2009) padronizaram o teste para *Parkia velutina* na concentração de 0,5%,

¹Bióloga, Professora Dra em Ecofisiologia Vegetal – Setor de Botânica – Departamento de Ciências Biológicas/DCB – Universidade Federal do Espírito Santo/UFES – 29075-910 – Vitória, ES – viviborgesecorte@yahoo.com.br

²Engenheiro Florestal, Professor Dr. em Ecologia e Recursos Naturais – Departamento de Engenharia Florestal/DEF – Universidade Federal de Viçosa/UFV – 36570-000 – Viçosa, MG – elborges@ufv.br

³Graduanda em Engenharia Florestal – Departamento de Engenharia Florestal/DEF – Universidade Federal de Viçosa/UFV – 36570-000 – Viçosa, MG – babicorradi@gmail.com

por duas horas, detectando sua eficiência na caracterização de lesões causadas por inseto e danos mecânicos. A mesma concentração foi usada por Kalil Filho et al. (2008) na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Ocotea porosa*. Medeiros & Silva (2001) avaliaram a qualidade de sementes de *Ilex paraguayensis* durante a secagem, utilizando o sal na concentração de 0,1%, no tempo de 24 horas. A concentração de 0,075%, utilizada por Ferreira et al. (2004), foi adequada na avaliação da viabilidade de sementes de *Senna multijuga* e *S. macranthera* durante o armazenamento no banco de sementes do solo. A mesma concentração foi usada por Oliveira et al. (2003) quando se detectou diferença significativa de dormência entre lotes de sementes de *S. multijuga*. Os resultados do teste de germinação foram inversos aos obtidos pelo teste de tetrazólio e número de sementes dormentes. Os testes de tetrazólio corroboraram os resultados de germinação para sementes armazenadas de *Luehea divaricata* por 12 meses (BORGES et al., 2007). Dessa forma, Santos et al. (2006) recomendam o uso do teste para sementes de *Sebastiania commersoniana* pela economia, praticidade e reduzido tempo de realização do teste.

Braúna preta (*Melanoxylon brauna* Schot. - Leguminosae-Caesalpinoideae) é árvore nativa da Floresta Atlântica, conhecida pela qualidade e durabilidade de sua madeira (LORENZI, 1992). Em razão da exploração de sua madeira e a falta de replantios a espécie está classificada como vulnerável, conforme a “Lista Oficial de Flora Ameaçada de Extinção” (IBAMA, 2008). Suas sementes são muito procuradas por insetos, e há alguns anos, tem sido difícil encontrar sementes viáveis para produção de mudas (observação dos autores).

Na busca de maiores informações a respeito de métodos de avaliação da qualidade fisiológica das sementes da espécie, neste trabalho, objetivou-se adequar a metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *M. brauna*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes de *Melanoxylon brauna* colhidas na região de Viçosa - Minas Gerais, obtidas de aproximadamente 15 árvores. Durante o beneficiamento, foram eliminadas sementes imaturas, deterioradas ou danificadas. As sementes foram armazenadas no Laboratório de Análise de Sementes Florestais (LASF) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em embalagens plásticas colocadas dentro de

tubos de papelão, em câmara fria a, aproximadamente, 5°C e 60% de umidade relativa durante o período das análises.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC) realizando-se análise de variância (ANOVA). As médias dos trabalhos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância e 95% de probabilidade.

2.1 Teste de tetrazólio

Inicialmente, as sementes foram pré-condicionadas por imersão em água destilada a 25°C por 12 horas. Posteriormente, retirado o tegumento das sementes, os embriões foram submersos em solução de tetrazólio (pH 6,5) nas concentrações de 0,05, 0,1 e 0,3%, sendo mantidos no escuro à temperatura de 25°C, por 10 e 24 horas para coloração. Após estes períodos, as sementes foram lavadas em água corrente. Cada embrião foi cortado longitudinalmente, avaliando-se a intensidade da coloração, presença de áreas de coloração leitosas, aspectos dos tecidos e localização da coloração em relação aos cotilédones e ao eixo embrionário.

Os embriões foram classificados em categorias de viáveis e inviáveis de acordo com os padrões propostos por Grabe (1976), ISTA (1993) e Moore (1972) e estabelecidas nove classes de viabilidade. Para fiel identificação dos critérios adotados para a classificação das sementes inviáveis, foram avaliadas sementes de baixa qualidade (<25% germinação) e sementes mortas, por exposição à água a 100°C, submetidas à solução de tetrazólio.

Os resultados do teste de tetrazólio foram comparados com os do teste de germinação e emergência das plântulas.

2.2 Teste de germinação

As sementes foram desinfestadas em solução de captan 0,5% por 60 segundos. Em seguida, colocadas para germinar em caixas plásticas tipo “gerbox” forradas com papel de filtro umedecido com água destilada até o ponto de saturação. Foram postas para germinar 100 sementes, distribuídas em cinco repetições de 20 sementes cada. O teste foi conduzido em temperatura constante de 25°C e luz constante com quatro lâmpadas fluorescentes (20W) em BOD e as avaliações feitas a cada 24 horas até o décimo dia, sendo consideradas germinadas as sementes com protrusão da radícula.

2.3 Emergência de plântulas

As sementes foram desinfestadas em solução de captan 0,5% por 60 segundos. Em seguida, foram colocadas 200 sementes para germinar, em 10 subamostras de 20 sementes cada, em caixa com areia lavada, sob condições ambientais, sem controle de temperatura ou umidade relativa. As sementes foram colocadas a, aproximadamente, 100mm de profundidade, e cobertas com areia. A irrigação foi feita sempre que se julgou necessário para manter a areia úmida. A contagem foi efetuada aos vinte dias após a semeadura, determinando a porcentagem de plântulas normais emergidas.

3 RESULTADOS

Sementes recém colhidas de *Melanoxylon brauna* apresentaram 97% de germinação na BOD e 93% de plântulas normais emergidas em areia.

Os valores dos resultados do teste de tetrazólio são apresentados na Tabela 1 e comparados à porcentagem de germinação e emergência de plântulas.

Tabela 1 – Resultados dos testes de tetrazólio e germinação em sementes e emergência de plântulas de *Melanoxylon brauna*.

Table 1 – Results of tetrazolium test and germination test in seeds and seedling growth of *Melanoxylon brauna*.

Tetrazólio		Sementes viáveis (%)
Concentração (%)	Tempo (horas)	
0,05	10	83,0 B
	24	90,0 A
0,1	10	90,0 A
	24	94,0 A
0,3	10	95,0 A
	24	95,0 A
Teste de germinação		97,0 A
Porcentagem de emergência		93,0 A

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

A concentração de solução de 0,05% por 10 horas diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) do teste de germinação pela não coloração do eixo embrionário e do cotilédone, ou por aparecimento de coloração intensa, indicando deterioração dos tecidos.

Verifica-se que os resultados referentes à viabilidade das sementes nas concentrações de tetrazólio 0,05% por 24 horas e 0,1 e 0,3% por 10 e 24 horas não diferiram ($p > 0,05$) dos resultados dos testes de germinação das sementes e emergência de plântulas e a concentração de 0,05%, mantidas por 10 horas subestimou a qualidade do lote de sementes (Tabela 1).

Seguindo-se esses preceitos, os embriões foram classificados individualmente em categorias de viáveis e inviáveis com base nas observações de intensidade da coloração, localização e firmeza dos tecidos, sendo estabelecidas nove categorias de viabilidade, apresentadas na Figura 1, como se segue:

- Categoria 1 (viável): eixo embrionário com coloração rósea e cotilédones apenas levemente corados. Tecidos com aspecto normal e firme.

- Categoria 2 (viável): cotilédones pouco ou nada corados e eixo embrionário com coloração rósea. Tecidos com aspecto normal e firme.

- Categoria 3 (viável): cotilédones e eixo embrionário com coloração rósea. Tecidos com aspecto normal e firme.

- Categoria 4 (inviável): 50% dos cotilédones não corados ou com coloração vermelha-intensa, afetando o eixo embrionário.

- Categoria 5 (inviável): mais de 50% dos cotilédones com coloração vermelha-intensa afetando a região vascular. Eixo embrionário também apresenta coloração vermelha intenso afetando o cilindro central.

- Categoria 6 (inviável): cotilédones não corados ou com coloração vermelha-intensa afetando o eixo embrionário. Tecidos com aspecto flácido e apodrecido afetando a região vascular e cilindro central. Em alguns casos, semente associada a fungo.

- Categoria 7 (inviável): cotilédones com coloração vermelha-intensa a marrom e eixo embrionário vermelho-intenso.

- Categoria 8 (inviável): cotilédones com coloração vermelha-intensa a marrom e eixo embrionário não corado.

- Categoria 9 (inviável): cotilédones e eixo embrionário completamente descoloridos. Tecidos com textura flácida.

A viabilidade das sementes é representada pelas categorias 1, 2 e 3 e as sementes inviáveis apresentaram aspectos enquadrados nas categorias 4, 5, 6, 7, 8 e 9.

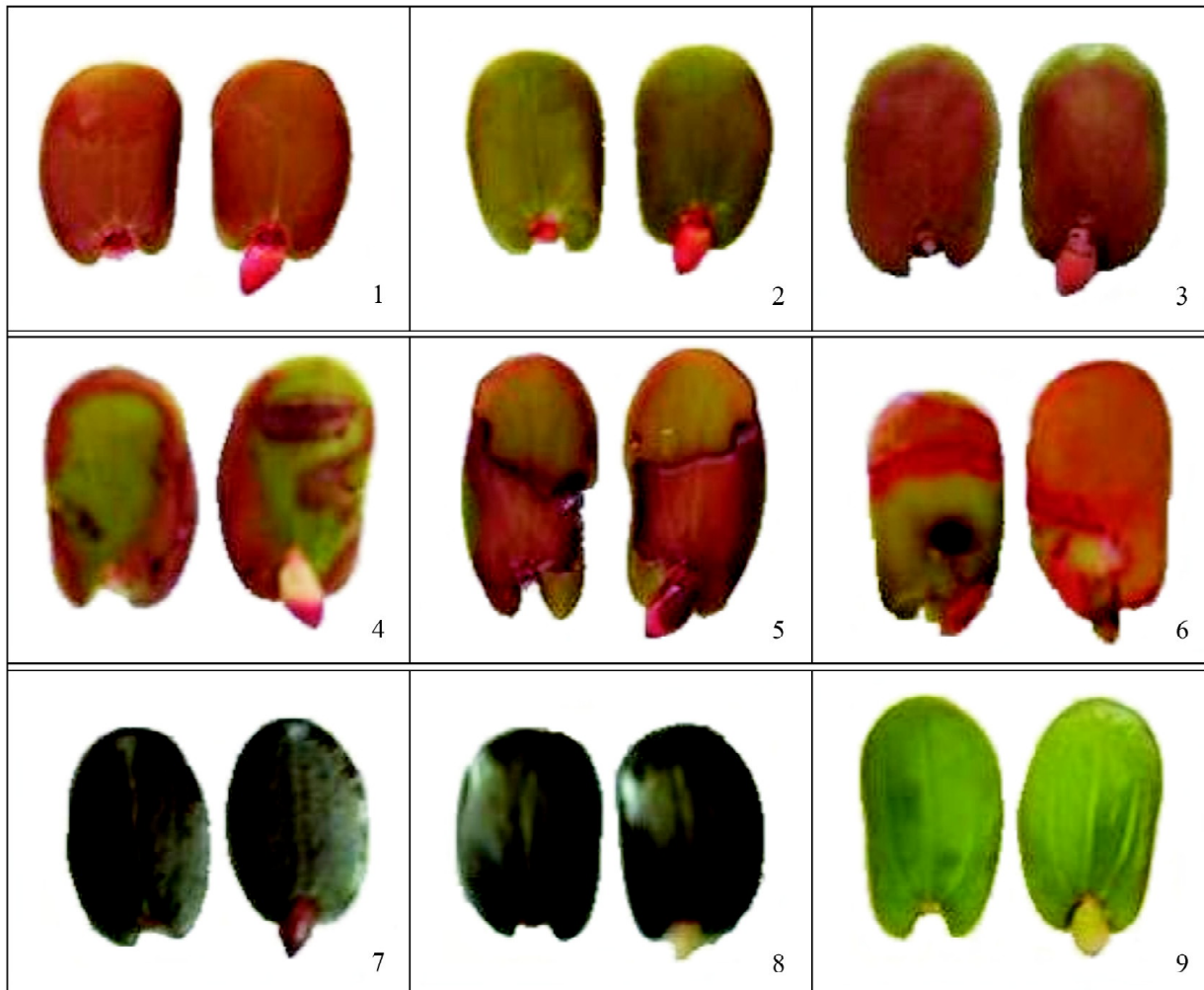


Figura 1 – Classes para a determinação da viabilidade de sementes de *Melanoxylon brauna* pelo teste do tetrazólio.

Figure 1 – Viability determination categories of *Melanoxylon brauna* seeds submitted to tetrazolium test.

4 DISCUSSÃO

Segundo Kryzanowski et al. (1999), a escolha da concentração e do tempo de incubação das sementes no teste de tetrazólio deve se basear na facilidade de diferenciação das sementes viáveis e inviáveis.

Se o sal de tetrazólio é reduzido, formando o composto vermelho, houve atividade respiratória nas mitocôndrias, significando que há viabilidade celular no tecido. Os tecidos não viáveis não reagem e, conseqüentemente, não são coloridos. A formação de um vermelho ou rosa claro indica tecido vigoroso e um vermelho mais intenso é observado nos tecidos em deterioração (FRANÇA NETO et al., 1998; KRYZANOWSKI et al., 1999).

Com relação aos métodos de preparo das sementes, observou-se que a presença do tegumento, em razão da sua dureza ou impermeabilidade, dificultou a penetração da solução de tetrazólio, conferindo às sementes coloração desuniforme ou ausência de coloração, indicando a necessidade da retirada do tegumento para coloração das estruturas viáveis. De forma semelhante, a retirada do tegumento vem sendo indicada para várias outras espécies, tais como *Styphnodendron adstringens* (SILVA et al., 1997), *Albizia hasslerii* (ZUCARELI et al., 1999), *Gleditschia amorphoides* (FOGAÇA et al., 2006), *Copaifera langsdorffii* (FOGAÇA et al., 2006), *Bauhinia forficata* (KROHN et al., 2001), *Peltophorum dubium* (OLIVEIRA et

al., 2005), *Tabebuia serratifolia* (OLIVEIRA et al., 2001), *Schizolobium parahyba* (PAULA et al., 2001).

Verifica-se que a viabilidade de sementes obtida nas concentrações de 0,05% mantidas por 24 horas e 0,1 e 0,3% por 10 e 24 horas não diferiram ($p > 0,05$) do resultado do teste de germinação e emergência. Esse resultado permite recomendar o método do teste de tetrazólio como substituto confiável do teste de germinação para avaliação da viabilidade de sementes de *Melanoxylon brauna*.

Segundo Ferreira et al. (2004), os resultados dos testes de germinação e de tetrazólio devem ser semelhantes, com margem de 5% de diferença entre eles. Essa afirmação confirma-se para a espécie estudada, bem como para outras espécies florestais, cuja metodologia para o teste foi estabelecida e os resultados permitem recomendá-los.

A obtenção de coloração uniforme e adequada para a interpretação segura e eficiente é fator importante para o sucesso do uso do teste (BHERING et al., 2005). Para a espécie estudada, deve-se levar em consideração a típica coloração verde dos cotilédones, cuja pigmentação irá se somar à pigmentação do reagente tetrazólio (Figura 1).

As sementes classificadas nas categorias 1, 2 e 3 apresentaram coloração rósea uniforme típica de tecidos vivos e vigorosos (Figura 1). De acordo com Moore (1985), tecidos vigorosos tendem a colorir gradual e uniformemente e, quando embebidos, apresentam-se túrgidos. A ocorrência de vermelho intenso é característica de tecidos em deterioração que permitem uma maior difusão da solução de tetrazólio, por meio de suas membranas celulares comprometidas (MOORE, 1985).

As sementes das categorias 5 e 6 apresentaram coloração vermelha intensa com desuniformidade, afetando em ambos os casos a região vascular e o cilindro central, regiões críticas na semente. Na região vascular localizam-se os vasos que conectam o eixo embrionário aos cotilédones, sendo de grande importância para o transporte de substâncias de reserva dos cotilédones à plântula nas fases iniciais da germinação e emergência. Sendo assim, o cilindro central é uma das regiões mais críticas do eixo radícula-hipocótilo, pois caso algum dano o atinja, a semente será considerada inviável (FRANÇA NETO et al., 1998). Manchas avermelhadas na categoria 6 podem ter sido causadas por atividades de fungos ou bactérias, considerando que a respiração de ambos resultaria na redução do sal e aparecimento da cor.

Nas sementes enquadradas nas categorias 7, 8 e 9 não foram observadas necroses e nem flacidez excessiva

dos tecidos, entretanto, a coloração mais intensa (embrião da classe 7 e cotilédones da classe 8) ou a ausência total de coloração (eixos embrionários das classes 8 e 9) indicam sementes inviáveis ou mortas.

Coloração branca, como nas categorias 4, 8 e 9 indica tecidos mortos, que não apresentam atividade enzimática necessária à produção do trifenílformazan (FRANÇA NETO et al., 1998).

Dentre os tratamentos cujos resultados de viabilidade das sementes melhor se correlacionaram ao resultado do teste de germinação, tem-se a imersão em solução de tetrazólio 0,05% por 24 horas, pois nesse tempo de incubação houve resultado equivalente ao teste de germinação associado à menor concentração de solução, ou o tratamento de 0,1% por 10 horas, tendo também um resultado equivalente ao teste de germinação associado a um menor tempo de incubação.

Dessa maneira, pode-se aliar características fundamentais atribuídas a um teste de excelência, tais como economia e rapidez. Essas são duas características relevantes no estabelecimento da metodologia mais adequada do teste, pois tanto a economia de reagentes em laboratório quanto a economia de tempo gasto (de aproximadamente 96 horas necessário para o início da germinação para apenas 10 horas no teste de tetrazólio) na obtenção do resultado podem favorecer a pesquisa em questão.

Segundo Marcos Filho (1994), dentre os critérios para avaliar a confiabilidade de um determinado teste para avaliação da qualidade de diferentes lotes, a correlação dos resultados desse teste com os resultados de emergência em campo é um dos parâmetros mais adotados. Por outro lado, deve-se ter em mente que a emergência em campo e os testes diretos de avaliação da qualidade das sementes são afetados por fatores muitas vezes não observados durante a condução de testes indiretos, como o tetrazólio, de modo que os resultados precisam ser interpretados com a devida cautela e a recomendação do teste acompanhada de devido treinamento. A presença de fungo ou outro microorganismo, por exemplo, cujo aparecimento é comum em sementes, pode causar a baixa germinação e emergência do lote e, no entanto, superestimar sua viabilidade no teste de tetrazólio.

5 CONCLUSÃO

A metodologia mais indicada como substituta do teste de germinação para sementes de *M. brauna* é a imersão em solução de tetrazólio 0,3% por 10 horas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BHERING, M. C.; DIAS, D. C. F. S.; BARROS, D. I. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 176-182, 2005.
- BORGES, K. C. F.; SANTANA, D. G.; RANAL, M.; DORNELES, M. C.; CARVALHO, M. P. Germinação de sementes e emergência de plântulas de *Luehea divaricata* mart. **Revista Brasileira Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 1008-1010, 2007. Suplemento.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.
- FERREIRA, R. A.; DAVIDE, A. C.; MOTTA, M. S. Vigor e viabilidade de sementes de *Senna multijuga* (Rich.) Irwin et Barn. e *Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn., num banco de sementes em solo de viveiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 24-31, 2004.
- FOGAÇA, C. A.; MALAVASI, M. M.; ZUCARELI, C.; MALAVASI, U. C. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 101-107, 2006.
- FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa, 1998. 72 p.
- GRABE, D. F. **Manual do teste de tetrazólio**. Brasília: Agiplan, 1976. 85 p.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE. **Lista oficial de flora ameaçada de extinção**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/flora>>. Acesso em: 18 out. 2008.
- INTERNATIONAL RULES FOR SEED TESTING. **Seed science and technology**. Zurich, 1993. 363 p.
- KALIL FILHO, A. N.; LOPES, A. J.; RÊGO, G. M.; TOMACHITZ, A. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de imbuia pelo teste de tetrazólio. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 57, p. 69-72, 2008.
- KROHN, N. G.; FOGAÇA, C. A.; SOUZA, M. A.; PAULA, R. C. Preparação e coloração de sementes de *Bauhinia forficata* Link. (Caesalpinaceae) para avaliação da viabilidade através do teste de tetrazólio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Anais...** Londrina: ABRATES, 2001. p. 278.
- KRYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218 p.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992.
- MARCOS FILHO, J. M. Utilização de testes de vigor em programas de controle de qualidade de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 33-35, 1994.
- MEDEIROS, A. C. S.; SILVA, L. C. efeitos da secagem na viabilidade das sementes de *Ilex paraguayensis* St. Hil. **Boletim Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 42, p. 35-46, 2001.
- MENDES, A. M. S.; BASTOS, A. A.; MELO, V. G. G. Padronização do teste de tetrazólio em sementes de *Parkia velutina* Benoist. (Leguminosae-Mimosoideae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 39, n. 4, p. 823-828, 2009.
- MOORE, R. P. Interpretation of color differences in tetrazolium testing. **Seed Technologist News**, v. 44, n. 3, p. 22-24, 1972.
- MOORE, R. P. **Handbook on tetrazolium testing**. Zurich: International Seed Testing Association, 1985. 99 p.
- OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; DAVIDE, A. C. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert – Leguminosae Caesalpinioideae. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 2, p. 159-166, 2005.
- OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; PINHO, E. V. R. von; GUIMARÃES, R. M.; VIEIRA, M. G. G. C. Avaliação de metodologias para o pré-condicionamento e tempo de incubação de sementes de ipê amarelo (*Tabebuia serratifolia*) submetidas ao teste do tetrazólio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Foz do Iguaçu. **Anais...** Curitiba: ABRATES, 2001. p. 257.
- OLIVEIRA, L. M.; FERREIRA, L. A.; MOREIRA, L. M. A. Germinação de sementes de *Senna multijuga* (Rich.) Irwin et Barn., sob diferentes condições de radiação luminosa e temperatura. **Revista Ciência Agronômica**, v. 34, n. 2, p. 213-218, 2003.

PAULA, R. C.; SOUZA, M. A.; KROHN, N. G.; FOGAÇA, C. A. Padronização do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Schizolobium parahyba* Vell. Blake – Caesalpinaceae. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Anais...** Londrina: ABRATES, 2001. p. 278.

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

SILVA, C.; SANTOS, D. S. B.; SANTOS FILHO, D. B. Avaliação da qualidade física e fisiológica de sementes de barbatimão (*Styphnodendron adstringens* (Mart.) Coville – Fabaceae – Mimosoideae) submetidas ao armazenamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10., 1997, Foz do Iguaçu. **Anais...** Curitiba: ABRATES, 1997. p. 207.

ZUCARELI, C.; ZUCARELI, C.; MALAVASI, M. M.; FOGAÇA, C. A.; MALAVASI, U. C. Preparo e coloração de sementes de farinha-seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Burr.) para o teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 186-91, 2001.