

UTILIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO NA AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO E DO VIGOR DE SEMENTES DE ALGODÃO (*Gossypium hirsutum* L.), COMO UM TESTE COMPLEMENTAR AO TESTE PADRÃO DE GERMINAÇÃO¹

VERA LÚCIA MACHADO DOS SANTOS², CARLOS ANTONIO BANCI², ANTONIO CEZAR CALIL², RICARDO MARENCO MENDOZA², ROBERTO FERREIRA DA SILVA³ e CARLOS MACHADO DOS SANTOS⁴

Revista Brasileira de Sementes, vol. 14, nº 2, p. 155-159, 1992

RESUMO - O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisa de Sementes do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, com o objetivo de propor a utilização do teste de tetrazólio como um teste complementar ao teste padrão de germinação, na avaliação da germinação e do vigor de sementes de algodão. Os tratamentos foram constituídos por oito lotes de sementes com linter, com diferentes valores percentuais de germinação (Lote 1 = 30%; Lote 2 = 40%; Lote 3 = 45%; Lote 4 = 55%; Lote 5 = 65%; Lote 6 = 75%; Lote 7 = 85% e Lote 8 = 90%). Às sementes dos diferentes tratamentos foram aplicados o teste padrão de germinação, teste de tetrazólio, além do teste de emergência em areia, no qual as sementes foram tratadas com Captafol mais Quintozene. Pelos resultados, constatou-se que: a) a avaliação da percentagem de germinação pelo teste padrão de germinação foi sensivelmente prejudicada pela presença de fungos nas sementes; b) houve uma alta correlação ($r = 0,87$) entre o teste de tetrazólio e o teste padrão de germinação. No entanto, uma correlação mais expressiva ($r = 0,90$) foi obtida entre o teste de tetrazólio e o teste de emergência em areia com sementes tratadas, em razão da não interferência de fungos; c) no teste padrão de germinação das sementes de algodão com linter, a presença de fungos na raiz primária e hipocótilo, dificultou a avaliação e interpretação do seu poder germinativo. Nessas circunstâncias, o teste de tetrazólio mostrou-se de utilidade como um teste complementar.

Termos para indexação: tetrazólio, sementes, algodão, germinação, vigor

USEFULNESS OF THE TETRAZOLIUM TEST TO EVALUATE GERMINATION AND VIGOR OF COTTON SEEDS (*Gossypium hirsutum* L.) AS A COMPLEMENTARY TEST TO THE GERMINATION STANDARD TEST

ABSTRACT - The present study was developed at the seeds research Lab of the Phytotechny Department at Federal University of Viçosa, MG, Brazil. The objective was to propose the utilization of the tetrazolium test as a complementary test to the standard germination test, for the evaluation of germination and the vigor of cotton seeds. The treatments were constituted of

¹ Aceito para publicação em 08.04.92

² Estudantes do curso de Pós-Graduação - Depto. de Fitotecnia - UFV - 36.570. Viçosa, MG

³ Professor do Departamento de Fitotecnia - UFV - 36.570. Viçosa, MG

⁴ Professor do Departamento de Agronomia - UFU - 38.400. Uberlândia, MG

eight linted seed plots, having different percentage values of germination (Plot 1 = 30%, Plot 2 = 40%, Plot 3 = 45%, Plot 4 = 55%, Plot 5 = 65%, Plot 6 = 75%, Plot 7 = 85% and Plot 8 = 90%). The germination standard test, the tetrazolium test and the seedling emergence in sand were applied to seeds from the different treatments. The seeds of the emergency test in sand were treated with Captafol plus Quintozene. The results showed that: a) the evaluation of the germination percentage according to standard germination test was sensibly harmed by the presence of fungus in the seeds; b) a high correlation coefficient between the tetrazolium and the standard test was observed ($r = 0,87$). However a higher correlation coefficient ($r = 0,90$) was obtained between the tetrazolium test and the emergency test in sand because the treated seeds did not suffer fungus effects; e) at germination standard test of linted cotton seeds, the presence of fungus at radicle and hypocotyl turned difficult the evaluation and the interpretation of the germinative potential. Under this circumstances the tetrazolium showed itself useful as a complementary test.

Index terms: tetrazolium, seeds, cotton, germination, vigor

INTRODUÇÃO

O teste padrão de germinação normalmente superestima o potencial de germinação de um determinado lote de sementes, devido às condições ótimas em que é realizado. No entanto, as análises de rotina com sementes de algodão, têm apresentado sérios problemas na interpretação dos resultados dos testes de laboratório e grandes discrepâncias têm ocorrido em função, principalmente, da presença de fungos na raiz primária e hipocótilo, dificultando a avaliação de seu poder germinativo. Normalmente, tem-se constatado um alto índice de plântulas infeccionadas e de sementes mortas, resultando num lote com poder germinativo inferior ao padrão, isso em razão das condições da semente e/ou mesmo do substrato, sendo que em certos casos tal situação não se verifica em testes de emergência no campo (Santos *et al.*, 1989, e Nunes *et al.*, 1986).

O teste padrão de germinação, rotineiramente utilizado, não fornece informações do vigor, impossibilitando de forma precisa a identificação dos fatores que afetam a qualidade das sementes, sendo que os seus resultados são, ainda, freqüentemente mascarados pela presença, principalmente, de fungos como *Colletotrichum gossypii* South e *Rizoctonia solani* Kuhn., além de outros de menor importância, tais como *Fusarium* spp. e *Phytophthora* spp. (Kurozawa & Rosa, 1976; Cia e Fusato, 1986; Nunes *et al.*, 1986; Pizzinato, 1986 e Zambolim & Vieira, 1986).

Simpson (1946) observou que as sementes tratadas com fungicidas germinavam melhor em comparação àquelas não tratadas, tendo atribuído tal fato ao controle de fungos que afetavam a germinação e o desenvolvimento das plântulas em laboratório.

Os principais prejuízos se refletem no grande número de lotes que são reprovados por não atingirem os valores estabelecidos nos "padrões", comprometendo desta forma a oferta de sementes de procedência conhecida,

obrigando aos cotonicultores a utilizarem o “caroço” para o plantio, prejudicando a produção final das lavouras.

O teste de tetrazólio apresenta-se como uma alternativa complementar promissora para a avaliação da germinação e vigor das sementes, uma vez que nesse teste não ocorre a germinação das sementes e os microorganismos danosos às plântulas não se manifestam e, portanto, praticamente não interferem nos resultados. Essa característica é mencionada por vários autores como uma limitação deste teste (Delouche *et al.*, 1976, e Marcos Filho, 1987).

Em razão dessas dificuldades, este trabalho teve como objetivo desenvolver e propor uma metodologia para se usar o teste de tetrazólio na avaliação da qualidade (germinação e vigor) das sementes de algodão, como um teste complementar ao padrão de germinação.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes

Foram utilizadas sementes com linter, provenientes de oito lotes da variedade ‘IAC-19’ fornecidos pelo Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, constando de oito tratamentos e quatro repetições.

Constituíram os tratamentos oito lotes de sementes de algodão com linter, com diferentes percentagens de germinação, conforme a seguinte relação:

Lote 1 - 30% de germinação.

Lote 2 - 40% de germinação.

Lote 3 - 45% de germinação.

Lote 4 - 55% de germinação.

Lote 5 - 65% de germinação.

Lote 6 - 75% de germinação.

Lote 7 - 85% de germinação.

Lote 8 - 90% de germinação.

Os seguintes testes foram aplicados às sementes dos diferentes tratamentos:

Teste-padrão de germinação: As sementes foram submetidas ao teste-padrão de germinação, conforme prescrição das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1976), com as seguintes modificações: em vez de 400 sementes, foram utilizadas 200 sementes com quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento, a avaliação das plântulas foi realizada cinco dias após a instalação do teste. Foram avaliadas as plântulas normais “fortes” e normais “fracas”, baseando-se no seu vigor aparente. Também foi registrado o número de sementes mortas, além das plântulas anormais infeccionadas e anormais danificadas ou deformadas.

Teste de Tetrazólio: Foram utilizadas quatro amostras de 25 sementes para cada tratamento. As 100 sementes foram pré-condicionadas em papel toalha umedecido por um período de 16 horas à temperatura de 30°C. Após esse período, as sementes foram preparadas, fazendo-se a remoção manual dos tegumentos, sendo que as sementes evidentemente mortas foram apenas contadas e descartadas e as restantes divididas em quatro lotes iguais e imersas em solução de 2,3,5-Cloreto de Trifenil Tetrazólio a 0,5%, ajustando-se o pH para 7,0. O material permaneceu imerso nesta solução por duas horas e meia, colocados numa estufa regulada a uma temperatura de 35°C. Após esse período, foi observado um bom desenvolvimento da coloração típica, sendo as sementes retiradas da estufa e, após drenada a solução de tetrazólio, lavadas em água corrente. Em seguida, as sementes foram colocadas em papel-toalha umedecido, assim permanecendo durante a interpretação do teste. As sementes foram examinadas uma a uma, distribuídas nas diversas classes, de acordo com o critério recomendado por Moore (1962), contando-se o número de sementes pertencentes ou incluídas em cada classe.

Segundo o método recomendado por Moore (1962), as sementes foram separadas em oito classes. Assim, a classe 1 (um) incluiu apenas aquelas sementes que apresentaram coloração satisfatória uniforme, com ausência completa de qualquer indício de deterioração, ou seja, as sementes consideradas perfeitas. As classes subsequentes (2, 3, 4 e 5) incluíram sementes que foram apresentando gradativamente maior alteração na intensidade de coloração, maior número de manchas e lesões, mas ainda em condições de produzir uma plântula normal. Quando a semente apresentou certa coloração, mas foi considerada incapaz de germinar, foi colocada na classe 6. Na classe 7 foram incluídas as sementes que apresentaram algumas manchas coloridas, porém obviamente sem condições de germinar. Na classe 8 foram colocadas, além das sementes que se apresentavam evidentemente mortas após o pré-condicionamento, as que não tiveram a mínima reação ao tetrazólio e, portanto, completamente mortas e/ou deterioradas.

Com os resultados, obteve-se não somente o potencial de germinação como também a diferenciação do vigor entre os lotes. O índice de vigor foi obtido somando-se os percentuais das classes de 1 a 3.

O nível de vigor foi interpretado, conforme proposição de França Neto *et al.* (1984), para sementes de soja, baseando-se na seguinte classificação:

- (1) Vigor alto: maior que 70% (Classes de 1 a 3).
- (2) Vigor médio: entre 69 e 50%.
- (3) Vigor baixo: entre 49 e 30%.
- (4) Vigor muito baixo: menor que 29%.

Teste de emergência em areia: As determinações foram conduzidas em casa de vegetação, utilizando-se como substrato areia, após ser fumigada com brometo de metila na dosagem de 150cc/m³ (Zambolim & Vieira, 1986). As sementes foram previamente tratadas com o produto Folseed (Captafol + Quintozene), aplicando-se 1% do produto comercial em relação ao peso das sementes. Cada tratamento foi constituído de cinco repetições de 20 sementes cada, sendo distribuídas sobre a camada de areia de 7,0cm de espessura e

cobertos por outra camada de areia de 2,0cm, em caixa plástica de 47 x 30 x 10cm. A umidade foi mantida em torno de 60% da umidade de saturação.

Foi determinada a velocidade de emergência, efetuando-se contagem diária das plântulas normais com hipocótilo superior a 1,0cm, até aos 10 dias após a sementeira. Determinou-se o “índice de velocidade de emergência” de acordo com Popinigis (1977) e, com base neste índice, determinou-se o nível de vigor, adotando-se o seguinte critério de avaliação.

- (1) <1,19: Muito baixo.
- (2) 1,20-1,99: Baixo.
- (3) 2,0-2,79: Médio.
- (4) 2,8-3,5: Alto.
- (5) 3,5-4,0: Muito alto.

Também foi determinada a percentagem de germinação, aos dez dias após a sementeira.

Análise estatística: Foram feitas análises de variância para todas as características avaliadas. Foi utilizado o teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade para comparação das médias. Posteriormente, foram calculados os coeficientes de correlação simples (r) para todas as combinações entre os testes, separadamente, para cada tratamento; a significância dos valores de (r) foi determinada pelo teste t, a 5% e a 1% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, são apresentados os resultados médios (%) relativos ao teste padrão de germinação, para os oito lotes utilizados.

TABELA 1. Dados relativos aos valores percentuais das plântulas normais fortes, normais fracas, normais total, plântulas anormais danificadas ou deformadas, e deterioradas e sementes mortas, referentes aos oito lotes de sementes, avaliados pelo T.P.G.¹.

Lote	Plântulas normais			Plântulas anormais		
	Fontes	Fracas	Total	Danificadas ou deformadas	Deterioradas	Sementes mortas
1	15,5 a	14,0 a	29,5 a	2,0 ab	12,0 b	57,0 e
2	28,0 b	13,0 a	41,0 b	0,0 a	13,5 b	45,5 d
3	15,0 a	30,5 c	45,5 b	4,5 bc	12,0 b	38,0 cd
4	27,5 b	27,5 bc	55,0 c	1,5 ab	12,0 b	31,5 c
5	24,5 ab	41,0 d	65,5 c	6,5 c	14,5 b	13,5 b
6	46,0 c	29,0 bc	75,0 d	6,0 c	16,5 b	8,5 ab
7	44,0 c	41,0 d	85,0 e	0,5 a	11,0 b	3,5 a
8	64,0 d	26,0 b	90,0 e	0,0 a	4,0 a	6,0 ab

¹ Na coluna, as médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Observa-se que houve uma grande variação na percentagem de plântulas normais, desde 29,5% no lote 1, a 90% no lote 8. Essas variações ocorreram principalmente em razão da maior percentagem de sementes mortas presentes nos lotes com menor percentagem de plântulas normais. Inúmeras plântulas

germinadas foram consideradas anormais por estarem infeccionadas, prejudicando ainda mais a percentagem de germinação dos diversos lotes. O lote com maior percentagem de germinação foi o que apresentou menor percentagem de plântulas anormais e sementes infeccionadas e mortas.

Os resultados relativos ao teste de tetrazólio encontram-se na Tabela 2. Observa-se que houve uma variação na percentagem de sementes germináveis, entre os diversos lotes, semelhante à variação ocorrida na percentagem de plântulas normais do teste padrão de germinação, porém apresentando valores mais elevados, principalmente, para os lotes com menores valores de germinação obtidos pelo teste padrão de germinação. Tal situação, provavelmente, verificou-se pelo fato de o teste de tetrazólio não envolver a germinação, não permitindo, portanto, que os fungos danosos às plântulas germinadas se manifestassem a ponto de interferir na avaliação dos resultados do teste. Esses resultados foram confirmados quando as sementes foram tratadas e colocadas para germinar em areia, em condições de casa de vegetação, como é mostrado na Tabela 3.

Pela análise de correlação dos dados, verificou-se uma correlação positiva ($r = 0,87$) entre o teste de tetrazólio e o teste padrão de germinação. No entanto, uma maior correlação foi observada entre o teste de tetrazólio e o teste de germinação em areia ($r = 0,98$), provavelmente pela menor ou nenhuma incidência de fungos no teste de emergência em areia, quando as sementes foram tratadas.

Com relação ao vigor das sementes dos diversos lotes, observa-se que, de um modo geral, lotes com maior percentagem de germinação apresentaram maior vigor, avaliados tanto pelo número de plântulas normais fortes obtidas no teste padrão de germinação (Tabela 1), como pelo índice de vigor obtido no teste de tetrazólio (Tabela 2), e pelo índice de velocidade de emergência em areia (Tabela 3).

TABELA 2. Dados relativos aos valores percentuais de sementes germináveis, não germináveis, índice e nível de vigor, avaliadas pelo teste de tetrazólio.¹

Lotes	Sementes		Índice de vigor	Nível de vigor
	Germinável	Não germinável		
1	47 a	53 a	25 a	(4) Muito baixo
2	63 b	37 b	50 c	(2) Médio
3	68 b	32 b	40 b	(3) Baixo
4	48 a	52 a	37 b	(3) Baixo
5	80 c	20 c	70 e	(1) Alto
6	83 cd	17 cd	69 e	(2) Médio
7	94 c	6 e	83 f	(1) Alto
8	89 cd	11 de	61 d	(2) Médio

¹ Na coluna, as médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 3. Dados relativos aos valores percentuais de plântulas normais, índice de velocidade de emergência e nível de vigor, avaliados pelo teste de emergência em areia.¹

Lotes	Plântulas normais (%)	Índice de velocidade de emergência	Nível de vigor
1	42 a	1,51 a	(2) Baixo
2	59 b	2,23 b	(3) Médio
3	77 c	2,71 c	(3) Médio
4	53 b	1,83 a	(2) Baixo
5	86 cd	3,24 d	(4) Alto
6	87 cd	3,30 d	(4) Alto
7	98 e	3,79 e	(5) Muito Alto
8	93 de	3,51 de	(5) Muito Alto

¹ Na coluna, as médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

A avaliação da percentagem de germinação pelo teste padrão de germinação foi sensivelmente influenciada pela presença de fungos nas sementes.

- Quando as sementes foram tratadas, houve uma correlação mais expressiva entre os testes padrão de germinação, tetrazólio e emergência em areia.

- Esses resultados sugerem que o teste de tetrazólio se mostra viável como teste complementar ao teste padrão de germinação, principalmente quando, pela presença de fungos, constatou-se uma percentagem de germinação inferior ao padrão estabelecido. Neste caso, lotes de sementes de algodão poderiam ter sua aprovação condicionada ao tratamento dos mesmos.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura. Escritório de Produção Vegetal. Equipe Técnica de Sementes e Mudas. **Regras para análise de sementes**, Brasília, 1976. 1888p.

CIA, E. & FUZATTO, M.C. Inspeção de campo visando sanidade de sementes de algodão. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2, Campinas, 1986. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1986, p.49-56.

DELOUCHE, J.C.; STILL, T.W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste tetrazólio para viabilidade da semente**. Tradução: Flávio F. Rocha, Brasília: AGIPLAN, 1976. 103p.

FRANÇA NETO, J.B.; PEREIRA, L.A.G.; COSTA, N.P. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. Londrina, PR, 41p. (Versão preliminar).

KUROZAWA, E.M.T.D.C. & ROSA, V.E. Tratamentos de sementes de algodão com fungicidas como medida de controle de Rizoctoniose. **Revista de Agricultura**, 51:149-156. 1976.

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

MOORE, R.P. Tetrazolium as universally acceptable quality test of viable seed. **Proc. Int. Seed Testing Assoc.**, 27(3):795-805, 1962.

NUNES, Jr. J.; MOREIRA, W.A.; CERQUEIRA, N.P.; RATTES J. Microorganismos associados às sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) no Estado de Goiás. In: REUNIÃO NACIONAL DO ALGODÃO, IV, Belém, 1986. **Resumos dos Trabalhos**. Campina Grande: EMBRAPA-CNPA/SAGRI-PA, 1986. p.103.

PIZZINATO, M.A. Tratamento de sementes de algodão. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2, Campinas, 1986. **Anais...** Campinas: Fundação Cargili, 1986. p.111-6.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1977. 289p.

SANTOS, C.M.; ALVARENGA, A.P.; ALVAREZ, J.R.G.; MUNOZ, V.E.K.; SILVA, R.F. Influência do substrato e do tratamento fungicida na germinação e na incidência de fungos em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 6, Brasília, 1989. **Resumos dos Trabalhos Técnicos**. Brasília: ABRATES, 1989. 124p.

SIMPSON, K.M. The longevity of cotton seed as affected by climate and seed treatments. **J. Am. Agron.**, 38:32-45, 1946.

ZAMBOLIM, L. & VIEIRA, J.M. Incidência e controle de fungos associados ao tombamento de plântulas de algodão na região Norte do Estado de Minas Gerais. In: REUNIÃO NACIONAL DO ALGODÃO, IV, Belém, 1986. **Resumos dos Trabalhos**. Campina Grande: EMBRAPA-CNPA/SAGRI-PA, 1986. p.104.