

EFEITO DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO DA COLORAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DE CENOURA

CRISTINA BATISTA DE LIMA^{1*}, TAMIRIS TONDERYS VILLELA², ANA CLAUDIA BOAVENTURA³,
CARLOS ALBERTO MICHETTI⁴, KAÍQUE ALVES COLABONI⁴

¹Dra. UENP/CLM, Bandeirantes-PR, crislima@uenp.edu.br

²Mestranda em Agronomia, UENP/CLM, Bandeirantes-PR, tamirisvily@gmail.com

³Mestre em Agronomia, UENP/CLM, Bandeirantes-PR, ac_boaventura@hotmail.com

⁴Discentes do Curso de Agronomia, UENP/CLM, Bandeirantes-PR, carlos.a.michetti@gmail.com;
colabone.k@gmail.com

Apresentado no
Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC'2016
29 de agosto a 1 de setembro de 2016 – Foz do Iguaçu, Brasil

RESUMO: O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da temperatura durante o período de desenvolvimento da coloração das sementes de cenoura, no teste de tetrazólio. Foram utilizados oito lotes de sementes de cenoura 'Brasília', categoria S2, adquiridos de empresa registrada, em embalagens hermeticamente fechadas. As sementes foram submetidas ao teste de tetrazólio (TZ), a 1%, durante 6 horas (na ausência de luz), sob as temperaturas de 30, 35, 40, 45 e 50 °C. Foram utilizadas cinco repetições de vinte sementes por lote, em cada temperatura. Na sequência, as sementes foram retiradas da solução de tetrazólio, lavadas com água destilada e imediatamente analisadas, com auxílio de estereomicroscópio. Para efeito de verificar a eficiência do TZ, nas diferentes temperaturas para desenvolvimento da coloração foi realizado o teste de germinação, com quatro repetições de 50 sementes de cada lote. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e as médias obtidas, agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Concluiu-se as temperaturas de 40, 45 e 50 °C não devem ser adotadas no desenvolvimento da coloração de sementes de cenoura, durante o teste de tetrazólio, por favorecer a interpretação de resultados errôneos. As temperaturas de 30 e 35 °C, podem ser recomendadas, sem implicações prejudiciais a avaliação das sementes e com resultados equiparáveis aos do teste de germinação.

PALAVRAS-CHAVE: análise de sementes, potencial fisiológico, sementes de hortaliças.

EFFECT OF TEMPERATURE ON COLORING DEVELOPMENT OF TETRAZOLIUM TEST IN CARROT SEEDS

ABSTRACT: The objective of the present work was to evaluate the effect of temperature during the development period of the color of carrot seeds in the tetrazolium test. We used eight lots of carrot seeds 'Brasilia', S2 category, purchased from registered company, in airtight containers. The seeds were subjected to the tetrazolium test (TZ), 1% during 6 hours (in the dark), at temperatures of 30, 35, 40, 45 and 50 °C. Twenty five replicates of seeds per lot were used at each temperature. Further, the seeds removed from the tetrazolium solution, washed with distilled water and immediately analyzed using a stereomicroscope. For checking the TZ efficiency at each temperature for color development was carried out the germination test with four replications of 50 seeds of each lot. The experimental design was completely randomized and the averages, grouped by the Scott-Knott test ($p \leq 0.05$). It concluded at the temperatures of 40, 45 and 50 °C, not be used in developing the color of carrot seeds during the tetrazolium test, to favor the interpretation of erroneous results. Temperatures of 30 and 35 °C can recommended without detrimental implications evaluation of seeds, and results comparable to the germination test.

KEYWORDS: seed analysis, physiological potential, vegetable seeds.

INTRODUÇÃO

A cenoura (*Daucus carota* L.) está entre as principais hortaliças comercializadas no Brasil, sendo que em 2011 a produção nacional foi de 780,8 mil toneladas de raízes, com produtividade média de 31,2 toneladas por ha (Carvalho, 2013). Segundo a Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas (ABCSEM) em 2012, as sementes de cenoura ficaram em terceiro lugar entre as dez hortaliças de maior consumo movimentando 42,7 milhões de reais (ABCSEM, 2014). A sementeira é a fase crítica do ciclo de desenvolvimento dessa cultura, pois as plantas são intolerantes ao transplante (Filgueira, 2008). O cultivo da cenoura, portanto, depende da escolha apropriada da cultivar e de sementes com elevada qualidade fisiológica (Pereira et al., 2007). Entretanto, suas sementes são muito pequenas e desuniformes, permanecendo longos períodos expostas às condições de campo após atingirem maturidade fisiológica. Tais fatores reduzem a qualidade e dificultam a padronização das técnicas para análise dessas sementes.

A utilização de testes rápidos para avaliar a qualidade das sementes é importante, principalmente, para agilizar decisões quanto ao manejo de lotes durante as etapas de pós-colheita das sementes. Os testes que demandam períodos de tempo curto fundamentam-se nos eventos iniciais da deterioração, baseando-se na integridade das membranas celulares e na redução das atividades enzimáticas e respiratórias das sementes, como o teste de tetrazólio (DELOUCHE e BASKIN, 1973). Esse teste tem se mostrado como uma alternativa interessante pela qualidade e rapidez na determinação da viabilidade e do vigor da semente, permitindo obter resultados em menos de 24 horas (DIAS e ALVES, 2008). O teste de tetrazólio permite determinar através da coloração de estruturas internas a presença, a localização e a natureza de possíveis alterações (França Neto et al., 1999). A eficiência do teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade das sementes depende do desenvolvimento do método adaptado para cada espécie, como a definição de condições apropriadas para o pré-condicionamento, o preparo, a coloração e a avaliação das sementes (PINTO et al., 2009). Recomenda-se que a temperatura para o desenvolvimento da coloração seja entre 35 a 40°C, por ser mais rápido, entretanto o teste pode ser realizado normalmente em temperaturas de 20 a 40°C (AÑEZ et al., 2007). Atualmente a metodologia indicada nas regras para análise de sementes 'RAS' (BRASIL, 2009), recomenda a temperatura de 30 °C para coloração de sementes de cenoura, no entanto, Marcos Filho et al. (1987) destacam que, em geral, a cada aumento de 5 °C na temperatura ambiente ocorre a duplicação da velocidade de reação, até o limite de 45 °C.

Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da temperatura, durante o período de desenvolvimento da coloração das sementes de cenoura, no teste de tetrazólio.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no laboratório de análise de sementes da Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel em Bandeirantes/PR, com oito lotes de sementes de cenoura 'Brasília', categoria S2, adquiridos de empresa registrada, em embalagens hermeticamente fechadas.

No teste de tetrazólio (TZ), as sementes foram colocadas para embeber em água destilada, durante 18 horas a 25 °C. A seguir, as sementes foram seccionadas por um corte longitudinal e lateral ao embrião (BRASIL, 2009). Após esse período as sementes permaneceram na solução de TZ (2, 3, 5 trifetil cloreto, Vetec®) a 1%, durante 6 horas (na ausência de luz), sob as temperaturas de 30, 35, 40, 45 e 50 °C. Foram utilizadas cinco repetições de vinte sementes por lote, em cada temperatura. Na sequência, as sementes foram retiradas da solução de tetrazólio, lavadas com água destilada e imediatamente analisadas, com auxílio de estereomicroscópio. Na avaliação individual, cada semente foi seccionada em duas partes, mediante corte longitudinal do eixo embrionário, e classificada de acordo com as cores e os aspectos visuais dos tecidos do embrião e endosperma. As regras para análise de sementes (Brasil, 2009) recomendaram na avaliação de sementes de cenoura, após o período de permanência na solução de TZ, que as sementes para serem consideradas viáveis devem apresentar embrião e endosperma completamente coloridos, sem tolerâncias quanto a áreas de tecidos não coloridos, flácidos ou necrosados. Desse modo, os critérios adotados no presente estudo, para classificação dos tecidos das sementes de cenoura, em relação às cores observadas na avaliação do embrião e do endosperma, foram definidos como: rosa com aspecto firme, túrgido, brilhante e sadio (tecido viável/vigoroso) vermelho escuro com aspecto sadio (tecido viável/não vigoroso) e não colorido com aspecto flácido, total ou parcialmente necrosado (tecido não viável).

Para efeito de verificar a eficiência do TZ nas diferentes temperaturas para desenvolvimento da coloração foi realizado o teste de germinação, com quatro repetições de 50 sementes de cada lote,

distribuídas de modo equidistante sobre uma folha de papel filtro, previamente umedecida com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco, dentro de recipientes plásticos transparentes, mantidos sob temperatura alternada de 20-30 °C. As avaliações foram realizadas no sétimo e décimo quarto dia após a instalação (Brasil, 2009), registrando-se o número de plântulas normais (folhas cotiledonares expandidas). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado sendo os dados originais em percentual, para cada lote nos dois testes, transformados em $\sqrt{x+0,5}$ e submetidos à análise de variância. As médias obtidas foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os percentuais médios das classes rosa e vermelho escuro variaram significativamente, conforme o aumento da temperatura (Tabela 1), diminuindo a média de sementes rosas e ampliando a de vermelhas. A menor média de rosas e maior de vermelhas ocorreu na temperatura de 50 °C, podendo a mesma ser considerada excessiva, na medida em que, favoreceu uma provável interpretação equivocada em relação a real qualidade fisiológica do lote. Marcos Filho et al. (1987) destacaram que, em geral, a cada aumento de 5 °C na temperatura ocorre a duplicação da velocidade de reação, até o limite de 45 °C, porém, este efeito não foi detectado no presente estudo. Resultado semelhante foi verificado por Añez et al. (2007). Segundo Vieira e Pinho (1999) temperaturas superiores a 30 °C, durante a exposição das sementes a solução de tetrazólio podem duplicar a velocidade de reação e diminuir o período necessário para avaliação, entretanto, ao mesmo tempo aumentam a quantidade de sementes consideradas inviáveis.

Tabela 1. Percentuais médios de oito lotes de sementes de cenoura ‘Brasília’, coloridas nos tons rosa, vermelho escuro e não coloridas, após cinco temperaturas (°C), para desenvolvimento da coloração no teste de tetrazólio. Bandeirantes (PR), 2016.

Classe	Temperatura	Lotes								Média
		1	2	3	4	5	6	7	8	
Rosa	30	64,0a	81,0a	65,0a	84,0a	78,0a	70,0a	75,0a	76,0a	74,1a
	35	48,0b	67,0a	68,0a	74,0a	67,0b	67,0a	81,0a	85,0a	72,4a
	40	68,0a	72,0a	64,0a	73,0a	79,0a	72,0a	75,0a	76,0a	69,6a
	45	59,0a	52,0b	57,0a	45,0b	64,0b	56,0b	56,0b	62,0b	56,4b
	50	37,0b	42,0b	46,0b	34,0b	51,0c	58,0b	55,0b	36,0c	44,9c
	CV(%)	17,1	15,1	16,46	15,68	14,26	12,77	13,83	14,70	18,01
Vermelho escuro	30	1,0c	0,0c	0,0c	0,0d	0,0c	0,0c	4,0c	0,0c	0,5d
	35	3,0c	1,0c	0,0c	0,0d	0,0c	0,0c	0,0c	1,0c	0,6d
	40	5,0c	12,0b	17,0b	17,0b	9,0b	12,0b	19,0b	16,0b	13,5b
	45	10,0b	18,0b	13,0b	7,0c	7,0b	12,0b	2,0c	6,0c	9,4c
	50	44,0a	45,0a	38,0a	57,0a	31,0a	34,0a	33,0a	50,0a	41,5a
	CV(%)	29,3	22,3	35,0	25,3	54,7	29,6	39,1	33,0	37,2
Não colorido	30	6,0a	9,0a	17,0a	7,0a	5,0a	12,0a	5,0a	7,0a	8,5a
	35	10,0a	2,0a	13,0a	5,0a	3,0a	3,0b	5,0a	5,0a	5,8b
	40	9,0a	9,0a	5,0b	2,0a	2,0a	5,0b	0,0a	2,0a	4,3b
	45	11,0a	8,0a	9,0a	12,0a	6,0a	4,0b	1,0a	6,0a	7,1a
	50	3,0a	11,0a	4,0b	3,0a	6,0a	1,0b	2,0a	6,0a	4,5b
	CV(%)	46,4	50,2	36,3	58,1	46,9	38,5	66,7	62,6	55,8

*Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%; CV= coeficiente de variação.

A cor vermelha foi observada desde a temperatura de 30 °C, aumentando sua frequência de acordo com o aumento da temperatura até atingir maior expressão, com variação percentual média de 263,4% no intervalo entre 40 e 50 °C (Tabela 2). Segundo Marcos Filho et al. (1987) quanto mais escura a cor da semente, maior a dificuldade de visualização dos tecidos e a identificação das injúrias, podendo-se confundir tecidos vivos com aqueles em deterioração. Gaspar-Oliveira et al. (2009) relataram que essa dificuldade contribuiu para que os resultados do teste de tetrazólio fossem discrepantes dos observados nos testes de germinação.

Tabela 2. Variação percentual calculada com as médias verificadas nas classes de tons rosa e vermelho escuro de oito lotes de sementes de cenoura 'Brasília', após cinco temperaturas (°C), para desenvolvimento da coloração no teste de tetrazólio. Bandeirantes (PR), 2016.

Classe	Temperatura	Média	Variação percentual		
			50	45	40
Rosa	30	74,1	- 39,5	- 23,9	-----
	35	72,4	- 38,0	- 22,1	-----
	40	69,6	- 35,6	- 19,0	-----
	45	56,4	- 20,4		
	50	44,9			
Vermelho escuro	30	0,5	-----	1774,0	2594,0
	35	0,6	-----	1411,3	2072,6
	40	13,5		-30,4	-----
	45	9,4	263,4		
	50	41,5			

Os percentuais médios de sementes viáveis, através da soma dos percentuais das classes rosa e vermelho escuro, obtidos no teste de tetrazólio após cinco temperaturas (°C), para desenvolvimento da coloração foram comparados com os resultados do teste de germinação (Figura 1). Somente as temperaturas de 30 e 35 °C apresentaram médias equiparáveis as do teste de germinação. Conforme as RAS (Brasil, 2009), a precisão dos resultados do teste de tetrazólio é avaliada pela comparação com os resultados do teste de germinação, sendo que, para sementes de cenoura, diferenças de até 6% entre os resultados do teste de tetrazólio e o de germinação são aceitáveis. Barros *et al.* (2005) em sementes de abobrinha e Lima *et al.* (2010) em sementes de pepino, também relataram a associação entre os resultados do teste de germinação e os de viabilidade pelo TZ.

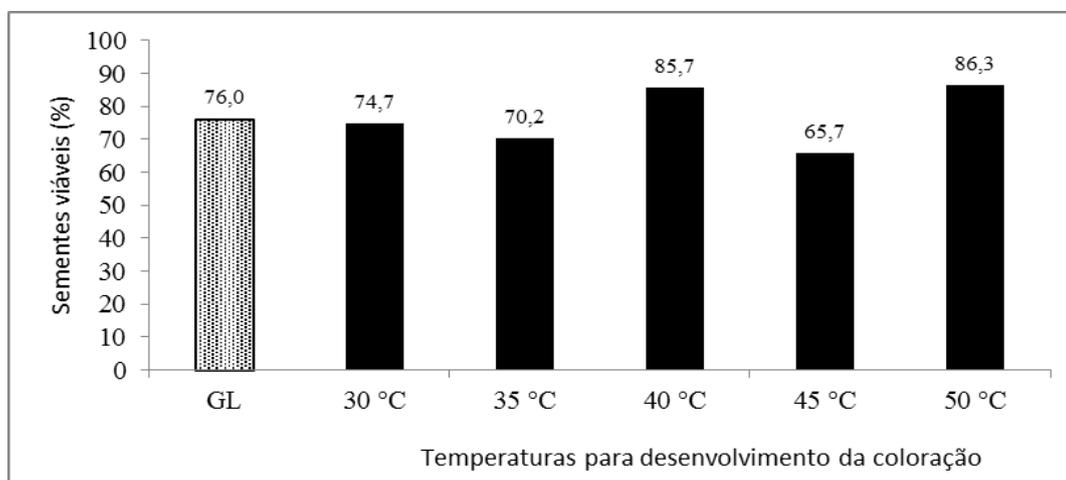


Figura 1. Comparação entre a média percentual geral do teste de germinação em relação as percentuais de sementes viáveis (rosa + vermelho escuro) de oito lotes de sementes de cenoura 'Brasília', após cinco temperaturas (°C), para desenvolvimento da coloração no teste de tetrazólio. Bandeirantes (PR), 2016.

CONCLUSÕES

As temperaturas de 40, 45 e 50 °C não devem ser adotadas no desenvolvimento da coloração de sementes de cenoura, durante o teste de tetrazólio, por favorecer a interpretação de resultados errôneos. As temperaturas de 30 e 35 °C, podem ser recomendadas, sem implicações prejudiciais a avaliação das sementes e com resultados equiparáveis aos do teste de germinação.

AGRADECIMENTOS

Aos órgãos de fomento CAPES, CNPq e Fundação Araucária pela concessão das bolsas aos discentes de mestrado e graduação.

REFERÊNCIAS

- Añez, L. M. M; Coelho M. F. B; Albuquerque, M. C. F. E; Dombroski, J. L. D; Mendonça, E.A.F. 2007. Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s 9: 82-88.
- Barros, D.I; Dias, D. C. F. S; Bhering, M. C; Dias, L. A. S; Araujo, E. F. 2005. Uso do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de abobrinha. *Revista Brasileira de Sementes* 27: 165-171.
- Brasil - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para Análise de Sementes. Brasília, MAPA/ACS. 2009. 399p.
- Dias, M. C. L. L.; Alves, S. J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Panicum maximum* Jacq pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 30, n. 3, p. 152-158, 2008.
- Filgueira, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2008. 402 p.
- Gaspar-Oliveira, C.M; Martins, C. C; Nakagawa, J. 2009. Concentração da solução de tetrazólio e período de coloração do teste para sementes de mamoneira. *Revista brasileira de sementes*, Londrina 31: 38-47.
- Lima, L. B; Pinto, T. L. F; Novembre, A. D. L. C. 2010. Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de pepino pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes* 32:60-068, 2010.
- Marcos Filho, J; Cícero, S.M; Silva W. R. 1987. *Avaliação da qualidade das sementes*. Piracicaba: FEALQ. 230p.