

# TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith - BIGNONIACEAE, SUBMETIDAS AO ARMAZENAMENTO<sup>1</sup>

Leticia Caravita Abbade<sup>2</sup> e Massanori Takaki<sup>3</sup>

**RESUMO** – As espécies do gênero *Tabebuia* são propagadas sexuadamente, e a utilização de sementes de alta qualidade é fundamental para obtenção de sucesso nos plantios de restauração de áreas degradadas, madeireiras e medicinais. Para isso, o emprego de testes rápidos em programas de controle de qualidade de sementes é ferramenta imprescindível para avaliação de sua qualidade fisiológica. Os objetivos deste trabalho foram estabelecer a metodologia para realização do teste de tetrazólio em sementes de *T. roseoalba* (ipê-branco) e verificar a viabilidade das sementes em função do tempo de armazenamento avaliando os parâmetros de germinação e compará-los com o resultado do teste de tetrazólio. Os frutos de ipê-branco foram colhidos manualmente no momento de abertura, e foram utilizadas sementes recém-colhidas e sementes armazenadas até 24 meses, obtendo-se resultados de teste de tetrazólio, germinação, emergência, comprimento e peso de matéria seca de plântulas. O teste de tetrazólio na concentração de 0,05% a 36 °C durante 24 h é indicado para avaliar a viabilidade das sementes de ipê-branco, e durante o armazenamento a porcentagem de germinação, comprimento e peso de matéria seca das plântulas é reduzida e a germinação das sementes em viveiro é bruscamente reduzida com o armazenamento das sementes no período de 24 meses.

Palavras-chave: Ipê-branco; Germinação; Viabilidade.

## ***TETRAZOLIUM TEST FOR QUALITY ASSESSMENT OF SEEDS OF *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith BIGNONIACEAE, SUBJECTED TO STORAGE***

**ABSTRACT** – The species of *Tabebuia* are propagated sexually, and the use of high-quality seeds is crucial to achieving success in restoration of degraded areas, timber and medicinal production. Thus, the use of rapid tests in programs to control seed quality is an essential tool for the assessment of their physiological quality. The objectives of the present study were to establish the methodology for conducting the tetrazolium test in seeds of *T. roseoalba* and verify seed viability as a function of storage time, evaluating germination parameters and comparing them with the results of the tetrazolium test. The fruits were manually harvested at the opening, and fresh seeds and seeds stored up to 24 months were evaluated by tetrazolium test, germination, emergence, length and dry weight of seedlings. The tetrazolium at a concentration of 0.05% at 36 °C for 24 hours is indicated to assess the viability of *T. roseoalba*, and during storage germination, length and dry weight of the seedlings are reduced and the germination in nursery is sharply reduced with seed storage in 24 months.

Keywords: Ipê-branco; Germination; Viability.

---

<sup>1</sup> Recebido em 16.05.2013 aceito para publicação em 11.03.2014.

<sup>2</sup> Instituto de Biologia; Universidade Federal de Uberlândia, UFU, Campus Umuarama, Brasil. E-mail: <leticiabbade@yahoo.com.br>.

<sup>3</sup> Departamento de Botânica, Laboratório de Fotomorfogênese de Plantas, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Campus de Rio Claro, Brasil. E-mail: <massa@rc.unesp.br>.

## 1. INTRODUÇÃO

A propagação sexuada é muito utilizada na obtenção de mudas de espécies do gênero *Tabebuia* para plantios florestais e na restauração de áreas degradadas e, por isso, a produção de sementes de alta qualidade é fundamental (OLIVEIRA et al., 2005).

O emprego de testes rápidos em programas de controle de qualidade de sementes é ferramenta imprescindível para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes, e por isso tem merecido permanente atenção dos tecnologistas, produtores e pesquisadores (DEMINICIS et al., 2009). Entre os testes utilizados, o do tetrazólio merece especial atenção. O teste do tetrazólio toma por base a atividade das enzimas desidrogenases envolvidas no processo de respiração. Pela hidrogenação do 2-3-5-trifenil cloreto de tetrazólio, é produzida nas células vivas uma substância vermelha, estável e não difusível, o trifenil formazan. Pela reação, é possível distinguir as partes vivas, coloridas de vermelho, daquelas mortas que mantêm a cor original. Esse teste tem sido aceito, segundo Deswal e Chand (1997), não somente como técnica para estimar a viabilidade, mas também o vigor das sementes. O teste de tetrazólio fundamenta-se na alteração da coloração dos tecidos da semente em presença de uma solução de sal de tetrazólio, que é reduzido pelas enzimas desidrogenases dos tecidos vivos, resultando num composto denominado Formazam, de coloração vermelho-carmim (FOGAÇA et al., 2006). Tecidos mortos ou muito deteriorados apresentaram-se descoloridos. O padrão de coloração dos tecidos pode ser utilizado para identificar sementes viáveis, não viáveis e, dentro da categoria viável, as de alto e baixo vigores (VIEIRA; VON-PINHO, 1999).

Na realização do teste de tetrazólio são indicados procedimentos, chamados de pré-condicionamento, que visam à penetração da solução nos tecidos de interesse a serem avaliados. Em sementes de espécies florestais, diversos tratamentos de pré-condicionamento vêm sendo utilizados, como corte, esscarificação e embebição em água (FERREIRA et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2005; MENDONÇA et al., 2006). A metodologia para o teste de tetrazólio vem sendo estudada para diversas espécies florestais, como mangaba-brava (MENDONÇA et al., 2006), sucará (FOGAÇA et al.,

2006), ipê-amarelo (OLIVEIRA et al., 2005), copaíba (FOGAÇA et al., 2001), guapuruvu (PAULA et al., 2001), araucária (SOROL; PÉREZ, 2001), canafístula (OLIVEIRA et al., 2001) e pata-de-vaca (KROHN et al., 2001), entre outras.

Além do pré-condicionamento das sementes, a utilização de solução de diferentes concentrações de tetrazólio, tempo e temperatura de condicionamento e avaliação adequada da coloração das sementes, é fundamental para que se obtenham resultados confiáveis sobre a sua qualidade. Para embriões de *Cássia sieberiana*, o melhor tratamento é o de solução na concentração a 1% de tetrazólio por 9 h, na temperatura de 35 °C (TODD BOCKARIE et al., 1993). Já para *Tabebuia serratifolia* é indicada a concentração da solução de 0,5% de tetrazólio por 12 h a 30 °C (OLIVEIRA et al., 2005).

Os objetivos deste trabalho foram estabelecer a metodologia para a realização do teste de tetrazólio em sementes de *T. roseoalba* (ipê-branco) e verificar a viabilidade das sementes em função do tempo de armazenamento, avaliando os parâmetros de germinação, e compará-los com o resultado do teste de tetrazólio.

## 2. MATERIALE MÉTODOS

Os frutos de ipê-branco foram colhidos manualmente no momento de abertura, no Campus da UNESP/Rio Claro. Foram utilizadas sementes recém-colhidas e sementes armazenadas até dois anos, em caixas plásticas hermeticamente fechadas, na temperatura, de acordo com Borba Filho e Perez (2009).

Foram avaliados os tempos de armazenamento a cada seis meses, por um período de 24 meses, e a testemunha (recém-colhidas), totalizando cinco tratamentos, cada um com quatro repetições, e em cada tempo de armazenamento foram retiradas amostras para a realização dos testes a seguir:

### 2.1. Teor de água

Retiradas da câmara de armazenamento, as sementes foram mantidas por 24 h em condições ambientais e tiveram seu teor de água determinado pelo método de estufa a 105 + 2 °C por 24 h (BRASIL, 2009). Foram realizadas quatro repetições de 1 g de sementes. Os resultados da determinação dos teores de água foram calculados com base no peso das sementes úmidas (base úmida), de acordo com Brasil (2009).

## 2.2. Teste de tetrazólio

As sementes foram pré-condicionadas em imersão em água por 12 h, a 25 °C. Decorrido esse período, retiraram-se as alas das sementes, e os embriões foram colocados em frascos âmbar, sendo totalmente submersos em solução de tetrazólio (pH 6,5) nas concentrações de 0,05% e 0,1% e mantidos no escuro à temperatura de 36 °C, por 24 h. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes em cada tratamento, seguindo-se a metodologia de Oliveira et al. (2005).

Decorridas as 24 h de submersão na solução, os embriões foram lavados em água corrente e deixados submersos em água até o momento da avaliação. Os embriões submetidos ao teste de tetrazólio foram seccionados no sentido longitudinal, expondo os cotilédones. As duas metades dos cotilédones foram individualmente examinadas a olho nu e classificadas de acordo com a extensão, intensidade dos tons avermelhados, presença de áreas brancas leitosas, aspecto dos tecidos e localização destas colorações em relação às áreas essenciais ao crescimento. Em razão da reação do tetrazólio, os embriões foram individualmente colocados em categorias de viáveis e inviáveis, de acordo com padrões publicados por Ista (1993), Grabe (1976) e Moore (1972). Segundo essas publicações, para diversas espécies agrícolas e florestais as sementes podem ser separadas em várias espécies agrícolas e florestais, separados em nove categorias, em que as categoria 1, 2 e 3 correspondem a sementes viáveis com embrião de coloração rosa e tecidos com aspecto normal e firme (1), menos de 50% dos com coloração vermelho-intensa (2) ou cotilédones descoloridos (3) ou não afetando a região de ligação com o eixo embrionário. Já as categorias 4 a 9 são consideradas inviáveis com eixo embrionário com regiões descoloridas, afetando o cilindro central (4); mais de 50% dos cotilédones descoloridos ou com coloração vermelho-intensa (5); região dos cotilédones com coloração vermelho-intensa ou descolorida, afetando o eixo embrionário (6); cotilédones descoloridos e eixo embrionário com coloração vermelho-intensa (7); embrião com coloração vermelho-intensa e tecidos flácidos, indicando processo de deterioração (8); e embrião completamente descolorido, com os tecidos flácidos (9).

Para comparação dos resultados do teste de tetrazólio, foram realizados os testes de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento de

raiz primária e parte aérea de plântulas, peso de matéria seca de plântulas e emergência em viveiro.

## 2.3. Teste de germinação

O teste de germinação foi realizado de acordo com Stockman et al. (2007), em câmara de germinação a 30 °C, sob luz branca constante. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada lote. As sementes foram colocadas para germinar em caixas gerbox com papel germtest e umedecidas com água destilada. A avaliação do teste de germinação foi realizada diariamente a partir do 2° dia até o 15° dia após a montagem do teste, em porcentagem de germinação.

## 2.4. Comprimento de plântulas

As sementes foram colocadas para germinar em caixas gerbox com papel germtest e umedecidas com água destilada, permanecendo em câmara de germinação a 30 °C, sob luz branca constante até o momento das avaliações, que se realizaram aos 30 dias após a semeadura. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada lote. Avaliaram-se, com o auxílio de um paquímetro, o comprimento da parte aérea e o sistema radicular (através da avaliação da raiz primária). O resultado foi expresso como média das plântulas observadas em cada tratamento e submetidas à análise de variância.

## 2.5. Peso de matéria seca de plântulas

Após a verificação do comprimento das plântulas, elas foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa com circulação forçada de ar, regulada à temperatura de 60 °C até atingir peso constante. Após atingir esse peso, as plântulas foram pesadas em balança analítica e os dados, submetidos à análise de variância.

## 2.6. Emergência em viveiro

A semeadura foi conduzida em bandejas contendo terra e areia (2:1 v:v), com irrigação diária. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada tempo de armazenamento. As avaliações foram feitas diariamente até o 15° dia após a semeadura, considerando normais as plântulas que apresentavam a parte aérea e a raiz em perfeito desenvolvimento.

## 2.7. Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

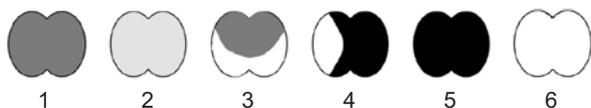
Calculado pelo somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a germinação, de acordo com a fórmula de Maguire (1962 citado por NAKAGAWA, 1994).

Os dados dos testes de tetrazólio, germinação, emergência, comprimento de plântulas e peso de matéria seca foram submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov, e os que apresentaram normalidade foram submetidos à ANOVA. As equações de regressão linear foram obtidas conforme Levine et al. (2008), assim como determinados os coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ) e testando a sua significância com o teste  $t$  (ZAR, 2010). Com o estudo da correlação, foram selecionadas as variáveis que apresentaram correlações significativas a 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS

As sementes dos lotes de ipê-branco nas condições de 0, 6, 12, 18 e 24 meses de armazenamento estavam todas com valores de umidade entre 10,7 e 9,3% de umidade por ocasião da realização dos testes, não sendo observadas diferenças estatísticas entre os lotes.

Na avaliação do teste de tetrazólio foram encontradas seis categorias de sementes viáveis e inviáveis, sendo as primeiras encontradas apenas nas categorias de 1 a 3 (Figura 1).



**Figura 1** – Categorias de sementes encontradas no teste de tetrazólio em lotes de sementes de ipê-branco:

**Viáveis:** 1 - embrião com coloração rosa ou mais escura e tecidos com aspecto normal e firme; 2 - demais regiões com coloração rosa ou mais escura e tecidos firmes (eixo intacto); 3 - menos de 50% dos cotilédones descoloridos, não afetando a região de ligação com o eixo embrionário; **Inviáveis:** 4 - mais de 50% dos cotilédones descoloridos ou com coloração preta, afetando ou não a região de ligação com o eixo embrionário; 5 - embrião com coloração preta; e 6 - embrião completamente descolorido, com os tecidos flácidos.

**Figure 1** – Categories of seeds found in the tetrazolium test for seed lots of white ipe: Viable: 1 - embryo with pink or darker and tissue with normal appearance and firm; 2 - other regions with pink or darker and firm tissues (intact axis), 3 - less than 50% of bleached cotyledons did not affect the binding region of the embryo; unfeasible: 4 - over 50% of the cotyledons discolored or black color, or not affect binding region the embryo; 5 - embryo with black color and 6 - embryo completely discolored, with flabby tissues.

A diferenciação dos lotes de ipê-branco foi obtida na concentração de 0,05%, correspondendo aos resultados obtidos no teste de germinação (Tabela 1), além de facilitar a análise visual por ter coloração mais nítida dos embriões.

As sementes de ipê-branco apresentaram 98,75% de germinação e 84% de emergência de plântulas em viveiro das sementes recém-colhidas (Tabela 1 e Figura 2A). Com o tempo de armazenamento, ocorreu queda acentuada no comprimento e peso das plântulas, que reflete o reduzido vigor das plântulas durante o armazenamento (Figura 2). Após 12 meses de armazenamento, houve acentuada queda na emergência das sementes, como mostrado tanto no teste de laboratório quanto em viveiro (Tabela 1 e Figura 2).

As equações foram ajustadas aos dados das variáveis analisadas em função das datas de armazenamento e estão apresentadas na Tabela 2. Os ajustes foram significativos a 0,05%. Quando se relacionam as variáveis com o tempo de armazenamento, a correlação foi significativa, porém negativa, inferindo que o aumento no tempo do armazenamento é desfavorável a todas as variáveis.

### 4. DISCUSSÃO

A escolha da metodologia adequada para o emprego do teste de tetrazólio deve basear-se na facilidade para a diferenciação de tecidos viáveis e inviáveis e na capacidade de diferenciar lotes de qualidades fisiológicas distintas (OLIVEIRA et al., 2004). A eficiência do teste de tetrazólio em avaliar a viabilidade e vigor das sementes está relacionada ao desenvolvimento de metodologia adequada para cada espécie, de modo a definir as condições mais apropriadas para o preparo e o pré-condicionamento e a coloração das sementes (BHERING et al., 2005). Assim, o preparo e pré-condicionamento das sementes antes da coloração são fatores decisivos.

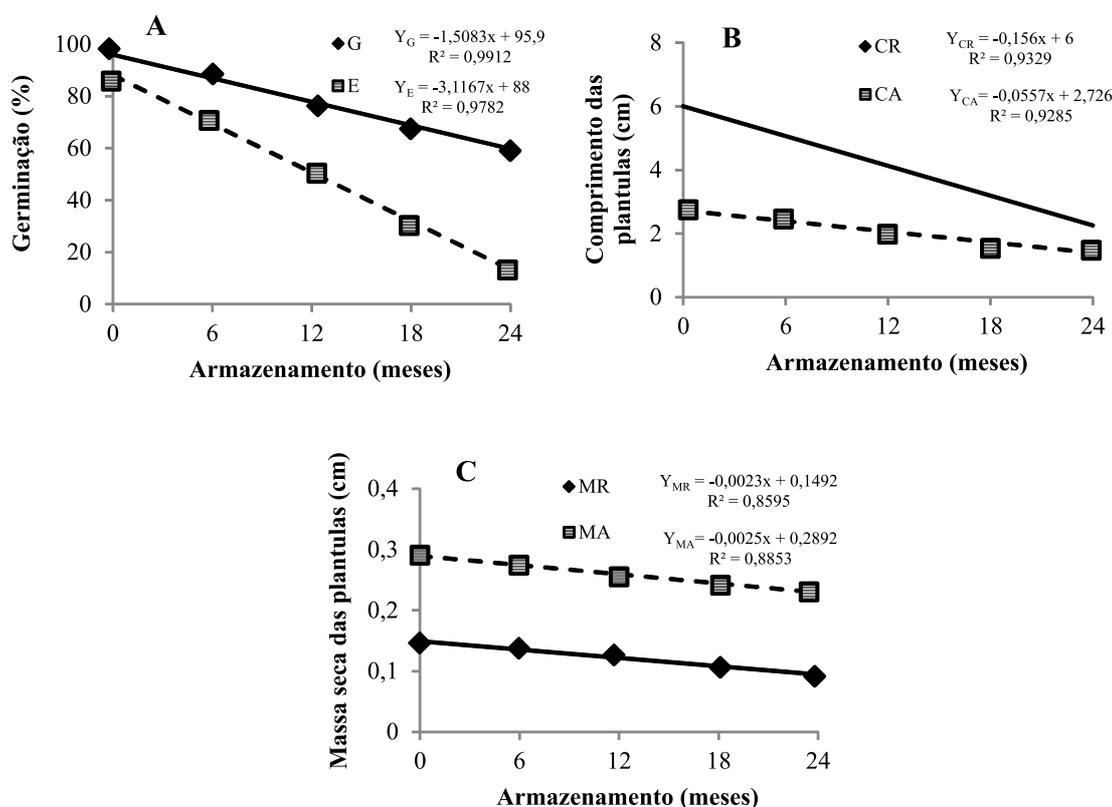
O teste de tetrazólio utilizando a concentração de 0,05% pode ser usado na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de ipê-branco, indicando que os maiores tempos possuem menor coloração do embrião. Marcos Filho et al. (1987) salientaram que várias concentrações da solução de tetrazólio podem ser utilizadas na condução do teste, dependendo da espécie avaliada, do método de preparo das sementes e da permeabilidade do tegumento, e, para sementes de espécies florestais, essas concentrações variam de

**Tabela 1** – Resultados médios (em porcentagem) de sementes viáveis no teste de tetrazólio em ipê-branco (*Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith), nas diferentes concentrações e tempo de armazenamento, em meses, após a colheita.

**Table 1** – Average results (in percentage) of viable seeds in the tetrazolium test in white ipe (*Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith), at different concentrations and storage, in months after harvest.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	6	12	18	24
0,05%	98,75 Aa	77,50 Ab	62,50 Abc	43,75 Bc	41,50 Bc
0,1%	88,75 Aa	76,25 Aab	63,75 Aab	65,00 Ab	68,75 Ab

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Means followed by the same capital letter columns and tiny in the rows do not differ, by Tukey test at 5% probability.



**Figura 2** – Resultados dos testes de germinação (% G) e emergência (% E) em viveiro (A), comprimento da raiz (CR), parte aérea das plântulas (CA) (B), massa seca de raiz (PR) e parte aérea de plântulas (PA) (C) após 30 dias de germinação de sementes de ipê-branco (*Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith) submetidas ao armazenamento.

**Figure 2** – Results of germination test (%G) and emergence (%E) in greenhouse (A), root length (CR) and seedling shoot (B) and dry weight of roots (PR) and shoots of seedlings (C) 30 days after germination of *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith, subjected to storage.

0,05% a 1%. Entretanto, as menores concentrações são mais indicadas por apresentarem menor custo com o sal e possibilitarem melhor visualização dos distúrbios de coloração e identificação de diferentes tipos de injúrias (FRANÇA NETO et al., 1998), como foi o caso da concentração de 0,05%, sendo a mais indicada para

as sementes de ipê-branco e também utilizada para avaliar a viabilidade das sementes de *Parkia velutina* (MENDES et al., 2009) e *Ceiba speciosa* (LAZAROTTO et al., 2011).

Os resultados dos testes de tetrazólio e germinação geralmente coincidem, porém podem apresentar discrepâncias consideráveis, isso porque, no teste de

**Tabela 2** – Matriz de coeficientes de correlações de Pearson das variáveis: porcentagem de germinação (% G), índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de emergência (% E), porcentagem de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio (Tz), peso de matéria seca da raiz de plântulas (PR), peso de matéria seca da parte aérea de plântulas (PA), comprimento da raiz das plântulas (CR) e comprimento da parte aérea das plântulas (CP).

**Table 2** – Matrix of Pearson correlation coefficients of the variables: percentage of germination (% G), germination speed index (IVG), emergence percentage (% E), percentage of viable seeds by the tetrazolium test (Tz), dry weight of the roots (PR), dry weight of shoots (PA), root length (CR), length of shoots (CA).

	Armazenamento	% G	IVG	% E	Tz	P R (g)	P A (g)	C R (cm)	C A (cm)
<b>Armazenamento</b>	1,00	-0,95*	-0,94*	-0,98*	-0,57*	-0,91*	-0,91*	-0,91*	-0,91*
<b>% Germ</b>		1,00	0,94*	0,93*	0,46*	0,84*	0,84*	0,83*	0,84*
<b>IVG</b>			1,00	0,93*	0,40 <sup>NS</sup>	0,76*	0,76*	0,77*	0,76*
<b>% Emerg</b>				1,00	0,58*	0,87*	0,89*	0,87*	0,89*
<b>Tetrazólio (% viáveis)</b>					1,00	0,62*	0,71*	0,67*	0,71*
<b>Peso raiz(g)</b>						1,00	0,93*	0,99*	0,93*
<b>Peso aérea (g)</b>							1,00	0,94*	1,00*
<b>C raiz (cm)</b>								1,00	0,94*
<b>C aérea (cm)</b>									1,00

\* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t. <sup>NS</sup> não significativo.

\* Significant at 5% probability by T test. \* NS not significant.

tetrazólio, somente o embrião é avaliado, não considerando a influência das estruturas externas das sementes nos resultados do teste de germinação, devido a possíveis infestações com patógenos no lote (BRASIL, 2009).

Durante os meses de armazenamento para a germinação e todos os outros fatores avaliados, houve diferença após seis meses de armazenamento. As sementes recém-colhidas tiveram, em todos os fatores avaliados, maior desempenho em relação ao armazenamento, o que permite inferir que o período entre a colheita e a semeadura exerce influência na porcentagem, índice de velocidade de germinação, comprimento de plântulas e peso de matéria seca das plântulas e, principalmente, na emergência em viveiro, em que a queda da germinação foi brusca após dois anos de armazenamento (14,5%). Esses resultados coincidem com os do teste de tetrazólio, que indicou redução na porcentagem de sementes viáveis a partir de seis meses de armazenamento.

Vários autores relacionaram o peso de sementes com a porcentagem de germinação e emergência, peso e comprimento de plântulas, fatores determinantes do estabelecimento da espécie estudada (HARE et al., 1999; MALCOLM et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2005, 2008). Como houve forte influência significativa de todas as variáveis analisadas em relação ao tempo de armazenamento, pode-se inferir que qualquer uma delas é importante aspecto a ser considerado para o período de armazenamento da espécie.

## 5. CONCLUSÃO

O teste de tetrazólio na concentração de 0,05% a 36 °C durante 24 h é indicado para avaliar a viabilidade das sementes de ipê-branco.

Durante o armazenamento, a porcentagem de germinação, o comprimento e o peso de matéria seca das plântulas são reduzidos.

A germinação das sementes em viveiro é bruscamente reduzida com o tempo de armazenamento das sementes.

## 6. REFERÊNCIAS

BHERING, M. C. et al. **Avaliação da viabilidade e do vigor das sementes de feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1996. 27p.

BORBA FILHO, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. A. Armazenamento de sementes de ipê-branco e ipê-roxo em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1,p.259-269, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: 2009. 399p.

- DEMINICIS, B. B. et al. Dispersão natural de sementes: importância, classificação e sua dinâmica nas pastagens tropicais. **Archivos de Zootecnia**, v.58, p.35-58, 2009.
- DESWAL, D. P.; CHAND, U. Standardization of the tetrazolium test for viability estimation in ricebean (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi e Ohashi) seeds. **Seed Science and Technology**, v.25, p.409-417, 1997.
- FERREIRA, R. A. et al. Morfologia da semente e de plântulas e avaliação da viabilidade da semente de sucupira-branca (*Pterodon pubescens* Benth. – Fabaceae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.1, p.108-115, 2001.
- FOGAÇA, C. A. et al. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.101-107, 2006.
- FOGAÇA, C.A. et al. Desenvolvimento do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. Caesalpinaceae. **Informativo ABRATES**, v. 11, n.2, p.279, 2001.
- FRANÇA NETO, J. B.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1998. 72p. (Documentos, 116).
- GRABE, D. F. **Manual do teste de tetrazólio**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 85p.
- HARE, M. C.; PARRY, D. W.; BAKER, M. D. The relationship between wheat seed weight, infection by *Fusarium culmorum* or *Microdochium nivale*, germination and seedling disease. **European Journal of Plant Pathology**, v.105, n.9, p.859-866, 1999.
- ISTA - International Rules for Seed Testing. **Seed Science and Technology**. 1993. 363p. (Supplement)
- KROHN, N. G. et al. Preparação e coloração de sementes de *Bauhinia forficata* L.. (Caesalpinaceae) para avaliação da viabilidade através do teste de tetrazólio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Anais...** Londrina: ABRATES, 2001. p.278.
- LAZAROTTO, M. et al. Adequação do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Ceiba speciosa*. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1243-1250, 2011.
- LEVINE, D. M. et al. **Estatística teoria e aplicações**. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 752p.
- MALCOLM, P. J. et al. Temperature and seed weight affect the germination of peach rootstock seeds and the growth of rootstock seedlings. **Scientia Horticulturae**, v.98, n.3, p.247-256, 2003.
- MARCOS-FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade fisiológica das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: Funep, 1994. p.133-150.
- MENDES, A. M. S.; BASTOS, A. A.; MELO, M. G. G. Padronização do teste de tetrazólio em sementes de *Parkia velutina* Benoist (Leguminosae – Mimosoideae). **Acta Amazonica**, v.39, n.4, p.823-828, 2009.
- MENDONÇA, E. A. F.; COELHO, M. F. B.; LUCHESE, M. Teste de tetrazólio em sementes de mangaba-brava (*Lafoensia pacari* St. Hil. - Lythraceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.2, p.33-38, 2006.
- MOORE, R. P. Interpretation of color differences in tetrazolium testing. **Seed Technologist News**, v.44, n.3, p.22-24, 1972.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.49-85.
- OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; DAVIDE, A. C. Utilização do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Tauber – Caesalpinioideae). **Informativo ABRATES**, v.11, n.2, p.118, 2001.

- OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; NERY, M. C. Teste de tetrazólio em sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley – Bignoniaceae. **Revista Ciência Agronômica**, v.36, n.2, p.169-174, 2005.
- OLIVEIRA, L. M. et al. Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *Tabebuia impetiginosa* (Martius Ex A. P. de Candolle) Standley - (Bignoniaceae) pelo teste de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.2, p.138-143, 2004.
- OLIVEIRA, D. A. et al. Potencial germinativo de sementes de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth. - Fabaceae: Mimosoideae) sob diferentes procedências, datas de coleta e tratamentos de escarificação. **Revista Árvore**, v.32, n.6, p.1001-1009, 2008.
- PAULA, R. C. et al. 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.
- SOROL, C. B.; PÉREZ, M. A. Determinacion de la viabilidad de las semillas de araucaria (*Araucaria angustifolia* Bert. O. Ktze.) através de la prueba topográfica por tetrazolio. **Informativo ABRATES**, v.11, n.2, p.287, 2001.
- STOCKMAN, A. L. et al. Sementes de ipê-branco (*Tabebuia roseoalba*(Ridl.) Sand. - Bignoniaceae): temperatura e substrato para o teste de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.3, p.121-125, 2007.
- TODD-BOCKARIE, A. H. et al. Pretreatment to overcome seed coat dormancy in *Cassia sieberiana*. **Seed Science and Technology**, v.21, n.2, p.383-398, 1993.
- VIEIRA, M. G. G. C.; von PINHO, E. V. R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.1.1-1.13.
- ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 5.ed. Upper Saddle River: Prentice-Hall, 2010. 994p.