

Programa de Análise de Semen
tes no Parana

Participantes: laboratoristas de LASP

Local: STS/TECPAR
Curitiba-PR.

Data: 03-06/02/1.981

1.981 Vol.3 Nº 1

1º Ciclo de Treinamento em Tetraz
zólio
(teste para sementes de soja)

Boletim LASP, 3 (1): 1-8, 1981



EMBRAPA

RESUMO DA PALESTRA

" Princípios do teste de tetrazólio para a semente de soja"

proferida por

JOSE DE BARROS FRANÇA NETO,
Engº Agrº M.Sc.

do

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA- CNP/Soja- EMBRAPA
Londrina - Paraná



Orientação Técnica:

<i>José de Barros França Neto</i>	<i>(EMBRAPA)</i>
<i>Nilton Pereira da Costa</i>	<i>(EMBRAPA)</i>
<i>Elisa Mitiko Hara</i>	<i>(EMBRAPA)</i>
<i>Maria Cristina Leme de Lima Dias</i>	<i>(IAPAR)</i>

Equipe Técnica do STS/TECPAR:

Elcy Saboia Zappia
Doroti Buss Gorte Basaglia
Rosemarie Lüdeke

I. INTRODUÇÃO

Resultados de testes como pureza, umidade, presença de sementes de invasoras são obtidos em questão de minutos.

O tempo para o teste de germinação é, às vezes, longo e interfere em decisões de comercialização.

Decisões relativas à comercialização, processamento, armazenagem, posicionamento de lotes, são adiadas por vários dias até que resultados de germinação sejam alcançados.

O teste de TZ é conhecido desde os anos 40, mas até hoje ainda não está sendo amplamente utilizado na área de semente, quer na produção ou em laboratórios.

A aplicação limitada do teste de TZ pode ser atribuída à relativa falta de informações para aqueles que realmente têm interesse: produtores e analistas de sementes.

Embora haja uma grande quantidade de literatura, a maioria é muito técnica ou escrita em língua estrangeira e os métodos não são bem detalhados.

II. HISTÓRICO

Outros métodos rápidos: condutividade elétrica
(muito limitados) velocidade de embebição
coloração e aspecto da semente
peso volumétrico



No fim do século XIX: uso de ácido sulfúrico

1.925 - certas anilinas - penetração mais rápida em te
cidos mortos.

Métodos baseados na atividade enzimática (bio-cataliza-
dores - presença de vida)

enzima peroxidase
enzima catalase

Teste de selênio: caro e muito tóxico

1.941 ["]Kuhn e Jerchel descobriram que o TZ se reduzia,
formando um composto vermelho em células vivas.
Lakon desenvolveu várias técnicas para diferen-
tes culturas e observou que o sal 2,3,5 trife-
nil cloreto de tetrazólio era o sal mais apro-
priado para o teste.

Em 1.945, após a guerra, durante um interrogatō-
rio a cientistas alemães, o trabalho de Lakon foi des-
coberto e publicado em língua inglesa. Após tal divulga-
ção, vários outros cientistas adaptaram tal processo
para outras culturas, como a soja.

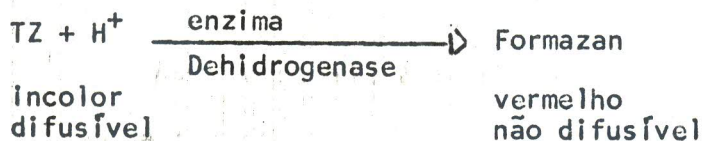
Pesquisadores que se destacaram: Louis Bass (Colorado)
Grabe (Oregon)
Moore (Carolina do Nor-
te)

O TZ pode ser utilizado, além da determinação da viabilidade para:

determinação de vigor
danos por fumigação
danos por calor (secagem)
danos por geada
deterioração por intempéries
danos mecânicos
danos por insetos

É também utilizado para determinar a viabilidade de grãos de polen.

III. P R I N C Í P I O S



MATERIAL NECESSÁRIO

- Sol. de TZ: 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio
- Vidraria: placas de Petri
copos de Beker ou plástico, isopor, papelão

Não usar frascos metálicos

- Lâmina cortante

- d. Pinça
 e. Lupa
 f. Estufa (35-40°C)

Custo: bem menor que o equipamento para germinação.

Observação: Em janeiro/81

10g sol. TZ = Cr\$ 3 mil
 Solução 0,05% (60 ml/amostra)

{ + 300 anos
 tras ou
 Cr\$ 10,00
 TZ/amostra

A. SOLUÇÃO DE TETRAZÓLIO

Concentrações

- 0,1% — 1,0 grama / 1.000 ml H₂O
 + 0,075% — 0,75 g/ 1.000 ml H₂O
 + 0,05% — 0,5 g/ 1.000 ml H₂O

+ Concentrações mais comumente utilizadas em soja.

Observações: preparar 1 litro solução a 1% (10g TZ/litro e diluir conforme o necessário).

Exemplo: 1 litro de solução 0,05%: 50 ml sol. 1% + 950 ml de H₂O

1 litro de solução 0,075%: 75 ml sol. 1% + 925ml de H₂O

Cuidados especiais:

A solução é sensível à luz — usar frascos escuros.

A coloração deve ser feita no escuro.

H₂O (pH:6-8) destilada ou "torneiral".

armazenar a solução em local fresco.

B. PREPARO DAS SEMENTES

1. AMOSTRAGEM (RAS)

2. Nº DE SEMENTES

a - Para Germinação: 400 $\left\{ \begin{array}{l} 4 \times 100 \\ 8 \times 50 \end{array} \right.$

Para pesquisa: 4 X 50 = 200

b - Para TZ

Número máximo normalmente utilizado

100 $\left\{ \begin{array}{l} 1 \times 100 + \\ \text{ou} \\ 2 \times 50 - \text{pesquisa geralmente } 1 \end{array} \right.$

+ Apenas uma repetição

Razões: mesmas condições para todas as sementes

No teste de germinação ocorre:

gradiente de umidade

fungos

gradiente de temperatura

$\left\{ \begin{array}{l} 4 \text{ a } 8 \\ \text{repetições} \\ \text{são necessárias} \end{array} \right.$

3. PRECONDICIONAMENTO

Soja: 16 horas em papel toalha úmido a $\pm 25^{\circ}\text{C}$

Não mergulhar a semente diretamente na solução.

4. COLORAÇÃO

Colocar as sementes na solução, no escuro: estufa ou germinador ($\pm 35-40^{\circ}\text{C}$)

período: 2 1/2 - 3 horas

5. LAVAGEM

Lavar bem a amostra com água comum.

Manter as sementes submersas.

Observação: a amostra preparada pode ser mantida no refrigerador por 24 horas até a avaliação.

C. INTERPRETAÇÃO

a. Danos

{ mecânicos
deterioração por umidade
percevejo
secagem

b. Viabilidade (áreas na semente)

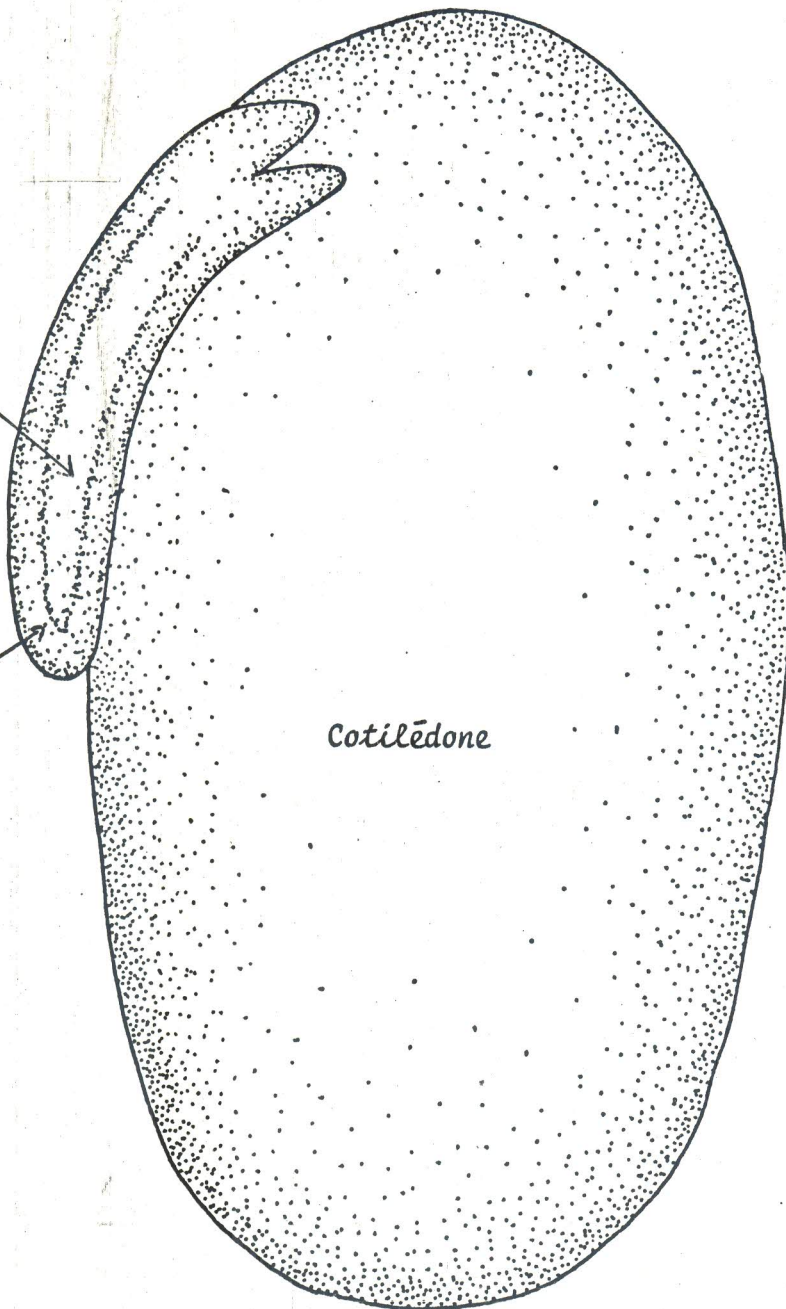
1. Viável { vigorosa: vermelho normal
em deterioração: vermelho escuro
2. Não viável
3. Morta: não colorida



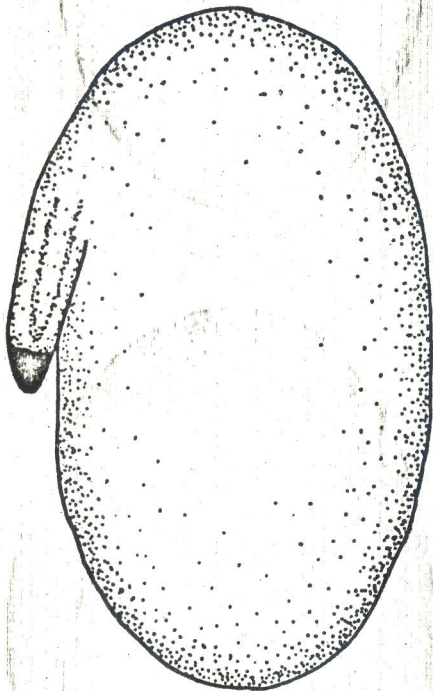
Cilindro
Central

Cortex

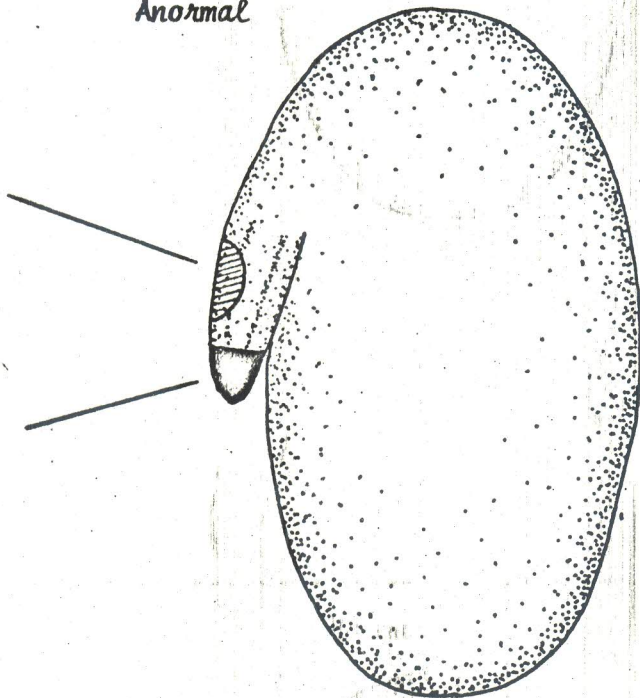
Cotilédone



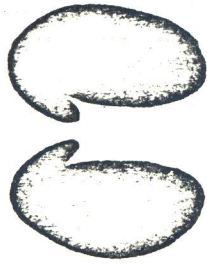
Normal



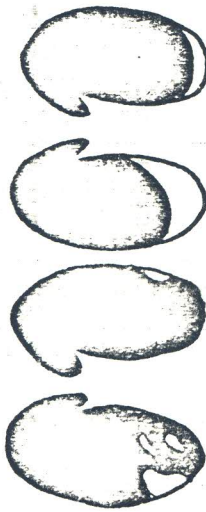
Anormal



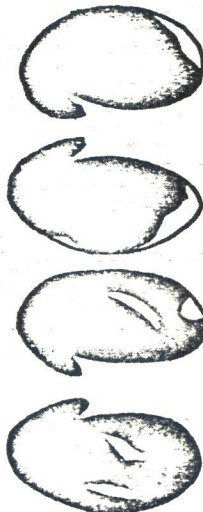
Sementes Germináveis



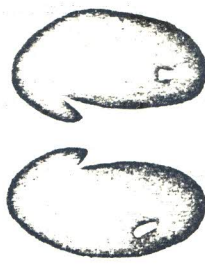
Semente completamente colorida; cor não excessivamente intensa



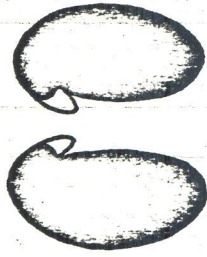
Áreas pequenas não coloridas nos cotilédones.



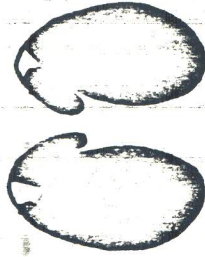
Ponta extrema da radícula não-colorida; áreas pequenas não coloridas nos cotilédones.



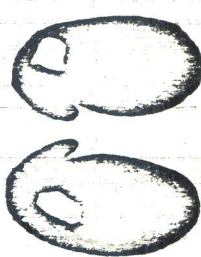
Sementes não Germináveis



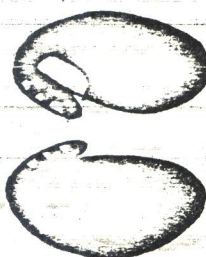
Mais do que a ponta extrema da radícula não-colorida.



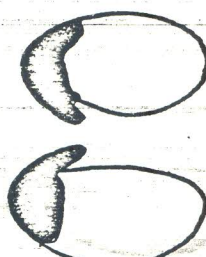
União do eixo radícula-hipocótilo com os cotilédones não-colorida.



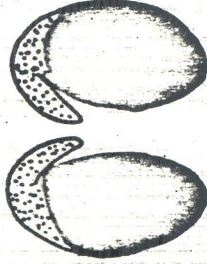
Área não-colorida na região onde está localizada a plúmula.



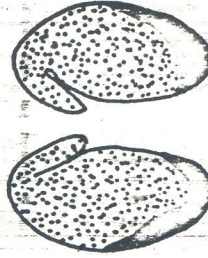
Áreas não-coloridas na porção superior do eixo radícula-hipocótilo.



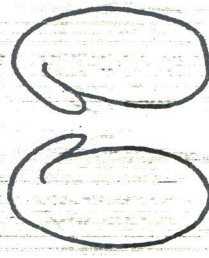
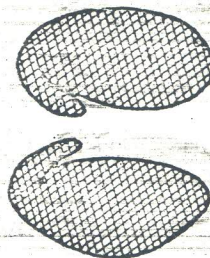
Mais da metade da extremidade superior dos cotilédones não-colorida.



Extremidade basal ou áreas mais extensas dos cotilédones e eixo radícula-hipocótilo de cor vermelha nublada ou vermelha leitosa a coloração se estende através de toda a área transversal dos cotilédones.



Sementes coloridas de vermelho púrpura intenso.



Sementes completamente não colorida.

c. Vigor

8 classes distintas

1 a 5: viáveis

6 a 8: não viáveis

Somatória das categorias 1, 2 e 3 = Índice de vigor

IV: PRECISÃO DOS RESULTADOS

Discrepâncias de resultados entre TZ e germinação. Motivos:

- 1- Diferenças de amostragem
- 2- Técnicas impróprias no teste de germinação
- 3- Técnicas impróprias no teste de TZ
- 4- Sementes dormentes ou duras
- 5- Organismos presentes na semente
- 6- Dano químico: fumigação e mercuriais

Observação: *em condições normais: diferenças de 3 a 5% entre os resultados dos dois testes são esperadas.*

V. VANTAGENS E LIMITAÇÕES

A. Vantagens

1. O teste enfoca atenção nas condições internas das estruturas do embrião.
2. Permite rápida avaliação - soja: 19 horas.
3. Permite observação em diferentes níveis de viabilidade.

4. Fornece o diagnóstico das causas da queda da viabilidade.
5. Dormência não é grande problema.
6. O equipamento necessário não é complicado, nem caro.

B. Limitações

1. Requer treinamento especial sobre estrutura de sementes e técnicas de interpretação.
2. É relativamente tedioso, desde que as sementes são avaliadas uma a uma.
Requer paciência e experiência.
3. Embora seja um teste relativamente rápido, ele consome um maior número de homens hora que o teste de germinação.
4. Em lotes que apresentam sementes duras (ou firmes), o resultado do teste de TZ é compatível com o total de sementes germináveis mais sementes duras (ou firmes).
5. Não mostra a eficácia de tratamentos químicos, nem as injúrias que estes possam causar.
6. Não detecta a presença de patógenos de sementes.
7. Não detecta perfeitamente danos recentes causados por geadas, calor e impactos mecânicos.

Observação: *Requer que o analista tenha confiança em si e no teste.*