

Teste do tetrazólio para estimativa da viabilidade de sementes

Tetrazolium test for estimating viability of seeds

Tatiane Aparecida Zorzal^{1,3*}, Dayana Effgen Fantinato^{1,3}, Luana Morati Campos^{1,3}, Ana Caroline Carvalho da Luz^{2,3} e Viviana Borges Corte^{1,3}

1. Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal. 2. Graduação em Ciências Biológicas. 3. Universidade Federal do Espírito Santo – UFES. Av. Fernando Ferrari, 514, Goiabeiras, Vitória, Espírito Santo, Brasil. CEP 29075-910.

*Autor para correspondência: tatienezorzal@gmail.com

Resumo O teste do tetrazólio constitui-se de um método rápido, barato e eficiente para a determinação da viabilidade das sementes. O objetivo dessa revisão foi realizar um levantamento de recomendações metodológicas destinado à avaliação da viabilidade de sementes pelo teste do tetrazólio, de modo a contribuir para um manual de técnicas de trabalho.

Palavras-chaves: viabilidade, germinação, sementes.

Abstract The tetrazolium test consists of a quick, cheap and efficient method to determine the viability of the seeds. The objective of this review was to conduct a survey of methodological recommendations for the evaluation of seeds viability by the tetrazolium test, in order to contribute to a technical manual of work.

Keywords: viability, germinability, seeds.

Introdução

O sucesso para produção de mudas, bem como a implementação de reflorestamentos com espécies nativas, requer o uso de sementes de alta qualidade (França Neto *et al.* 1998). Utilizar ou não uma metodologia de quebra de dormência, considerar ou não sementes firmes no final do teste como viáveis, são dúvidas comumente encontradas em muitos trabalhos, além disso, grande parte das espécies exige um tempo longo para germinar, sendo necessário o desenvolvimento de testes rápidos e que apresentem eficiência para determinar a viabilidade das sementes (Piña-Rodrigues e Santos 1988).

Pesquisas em tecnologia de sementes têm sido desenvolvidas com a finalidade de trazer melhorias em testes que avaliam a qualidade das sementes (McDonald 1998). Dentre esses

testes, o uso do tetrazólio tem sido apontado como mais viável para tal avaliação (Vieira e Carvalho 1994). Dados obtidos a partir do uso do teste podem estabelecer bases para a comercialização, determinação do ponto de colheita e controle de qualidade durante o processamento e armazenamento das sementes (Delouche *et al.* 1976; Grabe 1976).

De acordo com a ISTA (2004), o teste topográfico de tetrazólio é um teste bioquímico cujo objetivo é avaliar a viabilidade de sementes. Esse teste fornece uma estimativa rápida da viabilidade das sementes em geral e, em particular, naquelas que demonstram dormência. Seu uso permite estimar a viabilidade das sementes em apenas 24 horas, de acordo com a alteração da coloração dos tecidos vivos.

O reconhecimento do teste do tetrazólio, avaliando sua utilização para determinar a viabilidade de sementes, foi primeiramente feito por Khun e Jerchel (1941). O teste é empregado principalmente em sementes que apresentam germinação lenta ou que não germinam após o teste de germinação por se encontrarem dormentes (Brasil 1992) e é o mais utilizado por proporcionar o não desenvolvimento de fungos, como ocorre em testes padrão de germinação; diminuição do tempo de avaliação da viabilidade da semente, sendo que, em algumas espécies, identifica diferentes níveis de viabilidade; fornecimento da causa da perda da viabilidade; além de se tratar de uma técnica simples e barata (Delouche *et al.* 1976; França Neto *et al.* 1998; França Neto 1999).

O teste baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases, presentes nos tecidos vivos, que reduz a solução salina incolor de 2,3,5- trifenil tetrazólio, quando essa é absorvida pelas sementes, resultando na formação de um composto estável e de coloração vermelha, o trifenilformazan (Delouche *et al.* 1976). Dessa forma, o padrão de coloração pode ser utilizado para identificar

sementes não viáveis, viáveis, e ainda as de baixo e alto vigor (Vieira e Von-Pinho 1999).

A formação do composto vermelho indica que o sal do tetrazólio foi reduzido, indicando atividade respiratória nas mitocôndrias, existindo viabilidade celular no tecido. Quando o tecido não é corado, significa que não são viáveis, indicando a não reação com o sal. Tecidos em deterioração, presentes em sementes velhas e deterioradas, apresentam coloração vermelho intenso, já a formação de tecidos vermelho ou rosa claro, indica tecido vigoroso, enquanto que o tecido morto é normalmente caracterizado por coloração branca ou amarela e apresenta textura flácida (Delouche *et al.* 1976; Bhéring *et al.* 1996; França Neto *et al.* 1998; França Neto 1999; Kryzanowski *et al.* 1999).

De acordo com Rocha (1976) e França Neto e colaboradores (1998), para se obter uma coloração adequada, a solução de tetrazólio deve possuir um pH entre 6 e 8. Uma vez que, soluções ácidas não fornecem uma coloração ideal devido a uma alteração na velocidade e na intensidade de coloração de tecidos, o que prejudica a análise adequada dos resultados (Piña-Rodrigues e Santos 1988).

Segundo Rocha (1976) temperaturas entre 20 e 45°C não afetam a precisão do teste. Porém, para a obtenção de uma coloração rápida, o ideal é colocar as sementes em recipientes com solução de tetrazólio e levá-las em estufa com temperatura entre 35 e 40°C (Bhéring *et al.* 1996; França-Neto *et al.* 1998). Para espécies florestais, são recomendadas temperaturas entre 30 e 40°C (Piña-Rodrigues e Valentini 1995).

A escolha da concentração de tetrazólio, assim como o tempo de incubação das sementes, deve-se basear na facilidade de diferenciação das sementes viáveis e inviáveis (Kryzanowski *et al.* 1999), por proporcionar a possibilidade de melhor visualização dos distúrbios de coloração dos tecidos e a identificação de diferentes tipos de injúrias. Porém, o sal utilizado possui um preço elevado, por isso, a preferência pela utilização das menores concentrações possíveis que apresentem resultados adequados (Marcos-Filho *et al.* 1987; Krzyzanowski *et al.* 1991 e França-Neto *et al.* 1998). De acordo com esses e outros autores, as concentrações da solução do tetrazólio mais empregadas em análises são 0,075; 0,1; 0,2; 0,5 e 1,0%.

O teste do tetrazólio apresenta vantagens como não ser afetado por diversas condições que podem alterar os resultados do teste padrão de germinação, como o aparecimento de fungos; destaca as condições físicas e fisiológicas do embrião de cada semente individualmente; permite rápida avaliação da viabilidade; pode fornecer o diagnóstico da causa da perda da viabilidade das sementes e requer equipamento simples e barato (Delouche *et al.* 1976; França Neto *et al.* 1998; França Neto 1999). No entanto, seu uso não é muito aprofundado em sementes de espécies florestais e frutíferas (Piña-Rodrigues e Santos 1988). Porém, já existem alguns trabalhos de

padronização do teste do tetrazólio para espécies florestais (Tabela 1), mas como muitas sementes dessas espécies exigem um período longo de germinação, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas que reduzam o tempo para obtenção de resultados do teste do tetrazólio, por meio da definição de uma metodologia padronizada para cada espécie (Nascimento e Carvalho 1998).

Diante do exposto, o trabalho teve como objetivo realizar uma compilação de dados buscando indicar as metodologias estabelecidas do teste do tetrazólio mais adequadas para avaliar a viabilidade de sementes de algumas espécies vegetais.

Viabilidade de sementes

Metodologias para o teste do tetrazólio

Vários fatores podem interferir na obtenção de resultados satisfatórios no teste do tetrazólio, como preparo e pré-condicionamento das sementes antes de serem submetidas ao teste, concentração da solução de tetrazólio e período e temperatura de exposição ao sal. O pré-condicionamento ou hidratação facilita o preparo das sementes para o teste, a penetração da solução de tetrazólio, bem como o surgimento de uma coloração nítida (Moore 1985). Este pré-condicionamento pode ser realizado entre papel toalha ou papel de germinação umedecido (França-Neto *et al.* 1998).

Algumas sementes apresentam o tegumento mais duro e/ou impermeável, o que dificulta a penetração da solução do tetrazólio, sendo necessária a retirada do tegumento, como observado por Corte *et al.* (2010), utilizando sementes de *Melanoxylon brauna*; Zucareli *et al.* (1999) utilizando sementes de *Albizia bassleri*; Fogaça *et al.* (2006) com sementes de *Gledischia amorphoides* e *Copaifera langsdorffii*; Krohn *et al.* (2001) trabalhando com sementes de *Baubinia forficata*; Oliveira *et al.* (2005) com sementes de *Peltophorum dubium*; Oliveira *et al.* (2001) com *Tabebuia serratifolia*; e Forgaça *et al.* (2011) ao estudar sementes de *Shizolobium parahyba* (Tabela 1).

Bhering *et al.* (2005) estudando o teste do tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia (*Citrullus lanatus*) observou que, quando umedecidas, as sementes apresentavam-se escorregadias, dificultando o manuseio. Desta forma, os autores utilizaram a cal virgem como alternativa adequada para a remoção mais rápida desta mucilagem, de modo a facilitar o manuseio das sementes.

Dias e Alves (2008) ao utilizar ácido sulfúrico para quebrar a dormência de sementes de *Brachiaria brizantha*, verificaram que o ácido foi parcialmente efetivo na quebra da dormência somente nas primeiras épocas de avaliação, passando a prejudicar as sementes não dormentes nas últimas avaliações. Ao estudar sementes de *Panicum maximum*, os mesmos autores

Tabela 1 Descrição do pré-condicionamento, modo de preparo e aplicação do teste do tetrazólio (ttz) em diferentes espécies. Legenda: 1 - espécies cultivadas; 2 - espécies florestais; 3 - espécies daninhas; a - sementes dormentes; b - sementes não dormentes; (-) – não há informação.

Espécies	Pré-condicionamento	Método de preparo	Tempo/Concentração de ttz/ Temperatura de incubação	Referência
<i>Abelmoschus esculentus</i> ¹	Embebição em água (24h/30°C)	Retirada do tegumento	3h30min/0,75%/30°C	Eicheberger e Moraes 2001
<i>Acca sellowiana</i> ²	Imersão em água (12h/30°C)	Corte longitudinal e remoção do tegumento	2h/0,5%/40°C, no escuro	Sarmento et al. 2013
<i>Acrocomia Aculeata</i> ²	-	-	4h/0,5%/35°C	Ribeiro et al. 2010
<i>Albizia hasslerii</i> ²	Escarificação manual, seguida de embebição em água (24h/ 25°C)	Retirada do tegumento e corte longitudinal através do centro do eixo embrionário	5h/ 0,1%/35°C, no escuro	Zucarelli et al. 2001
<i>Amburana cearensis</i> ²	Escarificação e embebição em água (24h/35°C)	Retirada do tegumento	3h/0,05%/40°C	Guedes et al. 2010
<i>Anadenanthera peregrina</i> ²	Embebição em água (14h/25°C)	-	24h/0,1%/30°C	Pinho et al. 2011
<i>Annona cherimolla</i> ¹	Embebição em água (24/ 25°C ± 2 °C)	Corte longitudinal	2h/ 1,0%/30 °C ± 2 °C	Gimenez et al. 2014
<i>Arachis hypogaea</i> ¹	Embebição em papel toalha (16h/20°C)	Retirada do tegumento	2h/0,75%/40°C	Carvalho et al. 2009
<i>Araucaria angustifolia</i> ²	Embebição em água (18h)	Retirada do tegumento e do megagametófito	1h/0,1% ou 0,5%/25°C, no escuro	Oliveira et al. 2014
<i>Astronium graveolens</i> ²	Embebição em água (6h/35°C)	Retirada do tegumento	2h/0,25% ou 1h/0,50%	Fogaça 2003
<i>Avena sativa</i> ¹	Hidratação por imersão em água (18h/20°C)	Corte longitudinal	2h/1,0%/40°C, no escuro	Souza et al. 2010 b
<i>Avena stringosa</i> ¹	Hidratação entre papel (18 h/20 °C)	Corte longitudinal	2h/0,5% ou 1,0%/40°C, no escuro	Souza et al. 2009
<i>Brachiaria brizantha</i> ¹	Hidratação em papel toalha (16h/30°C)	Corte longitudinal	3h/0,1%/37°C, no escuro	Dias e Alves 2008
<i>Bactris gasipaes</i> ²	-	Corte das sementes pela metade	4h/ 0,1 a 1,0%/ 25° ou 30°C	Ferreira e Sader 1987
<i>Butia capitata</i> ²	Imersão em água (24h)	Secção longitudinal do endosperma e extração do embrião	4h/ 0,5%/ no escuro e temperatura ambiente (aproximadamente 22°C)	Fernandes et al. 2007
<i>Caesalpinia echinata</i> ²	-	-	2h/ 0,050% ou 0,075%/35%, no escuro	Lamarca et al. 2009
<i>Cassia Sieberiana</i> ²	-	-	9 h/1,0%/35°C	Todd –Bockarie et al. (1993)
<i>Ceiba speciosa</i> ²	Imersão em água (8h temperatura ambiente, de aproximadamente 22°C)	Corte longitudinal na metade da semente	4h/ 0,5%	Lazaratto et al. 2011
<i>Citrullus lanatus</i> ¹	Embebição em água (40min/40°C)	Corte e remoção do endosperma	1h/0,075%/40°C	Bhéring et al. 2005
<i>Clitoria ternatea</i> ¹	Escarificação manual e imersão em água (14h/25°C)	Retirada do tegumento	2,5h/0,3%/25°C no escuro	Deminicis et al. 2009
<i>Glycine max</i> ¹	Embebição em papel germitest (6h/41°C)	-	2,5/0,075%/40°C	Costa et al.1998
<i>Coffea arabica</i> ¹	Embebição em água (24h/30°C)	Retirada do endocarpo e endosperma	14-16h/0,1%/35°C, no escuro	Dias e Silva 1986
<i>Copaifera langsdorffii</i> ²	Escarificação e embebição em papel filtro (24h//35°C)	Retirada do tegumento	4h/0,2%/35°C, no escuro	Fogaça et al. 2011
<i>Cucumis sativus</i> ¹	Imersão em água (2h/ 40° C)	Retirada do tegumento e da membrana que envolve o embrião	1h/0,075%/40°C, no escuro	Lima et al. 2010

Espécies	Pré-condicionamento	Método de preparo	Tempo/Concentração de ttz/ Temperatura de incubação	Referência
<i>Cucurbita pepo</i> ¹	Embebição em água (30min/40°C)	Retirada do tegumento seguida de 0,5h para a retirada da membrana interna	30min/0,075%/40°C	Barros et al. 2002
<i>Eugenia involucrata</i> ²	Imersão em água (24h)	Corte longitudinal com tegumento e sem casca	2h /0,5%/30°C, no escuro	Cripa et al. 2014
<i>Eugenia pleurantha</i> ²	Imersão em água (12h/30°C)	Corte longitudinal com remoção do tegumento	4h/0,1%/30°C, no escuro	Masetto et al. 2009
<i>Eugenia pyriformis</i> ²	Imersão em água (24h)	Sementes inteiras sem tegumento Sementes inteiras com ¾ do tegumento Corte longitudinal com tegumento e sem casca	(4h/0,1%/30°C, no escuro 2h,4h,6h/0,075%,0,1%/30°C, no escuro), não permitiram um padrão ideal de coloração	Cripa et al. 2014
<i>Genipa americana</i> ²	Imersão em água (24h/30°C)	-	2h/0,25%/40°C no escuro	Nascimento e Carvalho 1998
<i>Gleditschia amorphoides</i> ²	Escarificação e embebição em água (48h)	Retirada do tegumento	3 h/0,075%/35°C	Fogaça et al. 2006
<i>Gossypium hirsutum</i> ¹	Imersão em água (2h)	Corte na extremidade oposta ao eixo do embrião, seguido de 6h de imersão em água, a 25°C, com posterior retirada do tegumento	2,5h/0,5%/40°C	Cervi et al. 2009
<i>Helianthus annuus</i> ¹	Imersão em água (16/25°C)	-	3h/ 0,1%/30°C, no escuro	Silva et al. 2013
<i>Hevea brasiliensis</i>	Hidratação entre papel (6h) Hidratação entre papel (18h)	Corte longitudinal	2 h/0,5%/40°C 3 h/0,5%/40°C	Wetzel et al. 1992
<i>Hordeum vulgare</i> ²	Imersão em água (4h/20°C)	Corte longitudinal, com eliminação de uma das metades da semente Corte longitudinal preservando as duas metades	3h/0,1% ou 0,5%/ 30°C, no escuro 2h/1,0%/ 40°C (com papel de filtro umedecido), no escuro	Grzybowski et al. 2012
<i>Hymenacneme amplexicaules</i> ³	Embebição em água (6h/23°C ± 1)	Retirada do tegumento	4h/0,5%/23°C ± 1°C	Silva et al. 2011
<i>Jacaranda cuspidifolia</i> ²	Embebição em água (24h/35°C)	Corte longitudinal	3h/0,075%	Fogaça 2003
<i>Jatropha curcas</i> ¹	Hidratação entre papel toalha (25°C)	Retirada do tegumento	2h/0,5%/40°C no escuro	Pinto et al. 2009
<i>Lafoensia pacari</i> ²	Embebição em água (48h)	Retirada do tegumento	1 h/0,075%/40°C	Mendonça et al. 2006
<i>Leucaena leucocephala</i> ¹	-	Corte e retirada do tegumento	2h/0,15%/35 °C	Costa e Silva 2010
<i>Lycopersicon lycopersicum</i> ¹	Hidratação entre papel toalha (3h/45°C)	Corte longitudinal	3h/0,075%/40°C	Santos 2003
<i>Malpighia emarginata</i> ¹	Embebição em água (9h/25°C)	Corte longitudinal	12h/0,5%/25°C, no escuro	Costa et al. 2003
<i>Melanoxylon brauna</i> ²	Embebição em água (12h/25°C)	Retirada do tegumento	10h/0,3%/25°C, no escuro	Corte et al. 2010
<i>Ocotea porosa</i> ²	Embebição em água (16h)	Corte longitudinal	2h/0,5%/40°C no escuro	Filho et al. 2008
<i>Panicum maximum</i> ¹	Hidratação em papel toalha (16h/30°C)	Corte longitudinal	3h/1%, 0,2%, 0,1%/37°C	Dias e Alves 2008
<i>Parapiptadenia rigida</i> ²	Embebição em água (4h/35°C)	Retirada do tegumento	3h/0,05%	Forgaça 2003
<i>Parkia velutina</i> ²	Escarificação mecânica por desponte na região oposta ao hilo, seguida de imersão em água (16h/30°C)	Retirada do tegumento	2h/ 0,5%/ 40°C, no escuro	Mendes et al. 2009
<i>Peltopborum dubium</i> ²	Escarificação e Embebição em água (14h/25°C)	-	2,5 h/0,1%/25°C	Oliveira et al. 2005b
<i>Piptadenia moniliformis</i> ²	Hidratação em papel toalha (24h/25°C)	Retirada do tegumento	4h/0,075%/35°C	Azerêdo et al. 2011

Espécies	Pré-condicionamento	Método de preparo	Tempo/Concentração de ttz/ Temperatura de incubação	Referência
<i>Plinia trunciflora</i> ¹	Câmara úmida entre papel germitest (24h/20°C)	Corte longitudinal	24h/25°C, no escuro	Hossel <i>et al.</i> 2013
<i>Poecilantbe parviflora</i> ²	Imersão em água (até atingir 40%)	Retirada do tegumento	1,5h/0,075%/40°C, no escuro	Pinto <i>et al.</i> 2008
<i>Pterodon pubescens</i> ²	Hidratação em papel germitest (14h)	Corte na extremidade apical	6h/0,075%/30°C, no escuro	Ferreira <i>et al.</i> 2001
<i>Ricinus communis</i> ¹	Papel toalha umedecido (12h/35°C)	Corte e retirada do tegumento	2h/0,2%/35°C	Gaspar-Oliveira <i>et al.</i> 2011
<i>Senna multijuga</i> ²	Hidratação com papel germitest (14h)	Retirada do tegumento e endosperma	5h/0,075%/35°C, no escuro	Ferreira <i>et al.</i> 2004
<i>Senna macranthera</i> ²	Hidratação com papel germitest (14h)	Retirada do tegumento e endosperma	7h/0,075%/35°C, no escuro	
<i>Schizolobium parabyba</i> ²	Escarificação e embebição em água (48h/35°C)	Retirada do tegumento	4h/0,10%/35°C, no escuro	Forgaça <i>et al.</i> 2011
<i>Sorghum bicolor</i> ¹	Papel toalha umedecido (18h/20°C)	Bissecção longitudinal com uma das metades da semente	3h/0,1%/40°C	Carvalho <i>et al.</i> 2014
<i>Tabebuia roseoalba</i> ²	Imersão em água (12h/25°C)	Retirada das alas	24h/0,05%/36°C, no escuro	Abbate e Takaki 2014
<i>Tabebuia serratifolia</i> ²	Embebição em água (12h)	Retirada do tegumento	12h/0,5%/30°C	Oliveira <i>et al.</i> 2005 a
<i>Tabebuia impertiginosa</i> ²	Embebição em água (12h)	Retirada do tegumento	12h/0,07%/30°C	
<i>Triticale (x.Triticosecale Wittmack)</i> ¹	Papel toalha umedecido (18h/20°C)	Corte longitudinal preservando as duas metades	3h/1,0%/40°C, no escuro	Souza <i>et al.</i> 2010 a
<i>Triticum aestivum</i> ¹	Umedecidas em toalha de papel (18h/20°C)	Corte longitudinal preservando as duas metades Corte longitudinal com descarte da metade da semente Corte longitudinal	2h/1,0%/40°C 3h/0,1%/30°C 2h/0,075%/40°C	Carvalho <i>et al.</i> 2013
<i>Xylopia aromatica</i> ²	Imersão em água (48h/30°C, no escuro)	Corte longitudinal	24h/0,5%/30°C	Socolowski <i>et al.</i> 2012
<i>Zea mays</i> ¹	Papel toalha umedecido (4h/35°C ou 40°C)	Corte, seguido de descarte de ½ da largura da semente	1h,2h ou 3h/0,075%/40°C, no escuro	Dias e Barros 1995, 1999

não observaram diferença significativa entre as três metodologias de condução do teste do tetrazólio, sendo todas eficientes, possibilitando o uso de metodologias que utilizem menor concentração do sal, e dessa forma primem pela economia do reagente.

Considerações finais

De acordo com o tipo de semente estudada, existem diferentes condições eficientes para o teste do tetrazólio, visando a coloração satisfatória, sendo que, para algumas sementes, são necessários alguns métodos de pré-condicionamento, seguido ou não de métodos de preparo, como a retirada do tegumento, corte ou escarificação, além de concentração e de temperatura específicas para a incubação na solução de tetrazólio.

Apesar de ser simples e fácil o teste de tetrazólio é um método qualitativo visual que se não for realizado por uma pessoa treinada pode gerar um falso negativo, sendo assim requer treinamento do técnico ou viveirista para que não haja uma interpretação equivocada dos resultados referentes a viabilidade das sementes analisadas.

Referências

- Bhéring MC, Dias DCFS, Barros DI (2005) Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Revista Brasileira de Sementes** 27: 176-182.
- Bhéring MC, Silva RF, Alvarenga EM, Dias DNFS, Pena MF (1996) Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio. **Boletim Técnico UFV Viçosa**.
- Brasil (1992) Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**.
- Corte VB, Borges EEL, Leite HG, Leite ITA (2010) Qualidade fisiológica de sementes de *Melanoxylon brauna* envelhecidas natural e artificialmente. **Scientia Forestalis** 38: 181-189.
- Delouche JC, Still TW, Raspet M, Lienhard M (1976) **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília, DF: AGIPLAN (103).
- Dias MCLL, Alves SJ (2008) Avaliação da viabilidade de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich) Stapf pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes** 30: 145-151.
- Fogaça CA, Krohn NG, Souza MA, Paula RC (2011) Teste de tetrazólio em sementes de *Copaiifera langsdorffii* e *Schizolobium parabyba*. **Floresta** 41: 895-904.
- Fogaça CA, Malavasi MM, Zucareli C, Malavasi UC (2006) Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. **Revista Brasileira de Sementes** 28: 101-107.
- França Neto, JB (1999) Teste de tetrazólio para determinação no vigor de sementes. *In: Kryzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B. (Ed.) Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES f. 128.
- França Neto JB, Kryzanowski FC, Costa NP (1998) **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa/CNPso, f. 72.
- Grabe DF (1976) **Manual do teste do tetrazólio em sementes**. Brasília, DF: AGIPLAN, f. 85.
- ISTA (2004) International Seed Testing Association. International Rules for Testing Seeds, 2004. **Seed Science and Technology** 32:403.
- Krohn NG, Fogaça CA, Souza MA, Paula RC (2001) Preparação e coloração de sementes de *Bauhinia forficata* Link. (Caesalpinaceae) para avaliação da viabilidade através do teste do tetrazólio. **Informativo ABRATES Curitiba** 1 f. 278.
- Kuhn R, Jerchel D (1941) Uber Invertscifen. VIII. Mitt, Reduktion von Tetrazolium salzen durck Bakterien, garende Hefe and Kiemend Samen. **Ber Deutsch Ges** 74: 49-952.
- Krzyzanowski FC, França Neto JB, Henning AA (1991) Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. **Informativo ABRATES Londrina** 1: 15-50.
- Kryzanowski FC, Vieira RD, França Neto JB (1999) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES p. 218.
- Marcos Filho J, Cicero SM, Silva WR (1987) **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 230p.
- McDonald (1998) Seed quality assessment. **Seed Science Research**, Wallingford 8: 265-275.
- Moore RP (1985) **Handbook on tetrazolium testing**. Zurich: International Seed Testing Association 99.
- Nascimento WMO, Carvalho NM (1998) Determinação da viabilidade de sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.) através do teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes** 20: 470-474.
- Oliveira LM, Carvalho MLM, Davide AC (2005b) Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Peltopporum dubium* (Sprengel) Taubert – Leguminosae Caesalpinoideae. **Cerne** 11: 159-166.
- Piña-Rodríguez FCM, Santos NRF (1988) Teste de Tetrazólio. *In: Piña-Rodríguez, F.C.M. (COORD.). Manual de análise de sementes florestais*. Campinas: Fundação Cargill, p. 91-100.
- Piña-Rodríguez FCM, Valentini SRT (1995) Aplicação do teste de tetrazólio. *In: Manual técnico de sementes florestais*. São Paulo: Instituto Florestal 61-73, (Série Registros, 14).
- Rocha FF (1976) **Manual do teste de tetrazólio em sementes**. Brasília: AGIPLAN, 85p.
- Vieira RD, Carvalho NM (1994) **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP f. 164.
- Vieira MGGC, Von Pinho EVR (1999) Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. *In: Kryzanowski FC, Vieira RD & França*

Neto JB (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina:
ABRATES f. 8.