



Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2023; 14:1-13. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2023.102>

Artigo Original. Recebido: 10/07/2023. Aceito:28/11/2023. Publicado: 27/12/2023. Chave: e2023-24.

<https://www.youtube.com/watch?v=aIU7tfVqRCI>



Viabilidade e vigor em cariopses de gramíneas dos semiáridos

Viability and vigor in caryopses of grasses from semi-arid regions

Edith Ramírez-Segura¹ , Adrián Hernández-Livera² , Leonor Miranda-Jiménez³ ,
Ricardo Sánchez-Gutiérrez⁴ , Adrián Quero-Carrillo^{*3} 

¹Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Agricultura Familiar, Km 8.5 Carretera Ojuelos-Lagos de Moreno, Ojuelos de Jalisco, Jalisco, México. ²Colegio de Postgraduados, Recursos Genéticos y Productividad – Semillas, Estado de México. México. ³Colegio de Postgraduados, Recursos Genéticos y Productividad – Ganadería, Campus Montecillo. Km. 36.5 Carretera Federal México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México. C.P. 56230. México. ⁴Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Zacatecas-INIFAP. Carretera Zacatecas-Fresnillo, 98500 Calera de VR Zacatecas, México. *Autor para correspondência: Adrián R. Quero Carrillo RGP- Ganadería. E-mail: ramirez.edith@inifap.gob.mx, halasamy@colpos.mx, lmirandaj@colpos.mx, sanchez.ricardo@inifap.gob.mx, queroadrian@colpos.mx

RESUMO

Poucos trabalhos estudaram a qualidade de sementes de gramíneas nativas do semiárido. O objetivo foi validar metodologias publicadas para outras Poaceae, para testes de viabilidade por Tetrazólio (TZ) em cariopses (Cs) de *Bouteloua curtipendula*, *Leptochloa dubia*, *Digitaria californica*, *Setaria macrostachya* e *Pennisetum ciliare*; isso considera o tempo de imbibição, a concentração de TZ e o tipo de corte das Cs e mostra os padrões de coloração dos tratamentos. A viabilidade e o vigor foram expressos em porcentagem e transformados em arcsine. Foi usado um projeto experimental completamente aleatório com arranjo fatorial: A) tempo de imbibição antes do corte; B), tipo de corte; C), concentração de TZ (V:V) e Tukey (P<0.05) para comparar as médias. O corte longitudinal foi mais adequado (P<0.05), permitindo a observação de estruturas embrionárias e a determinação de locais danificados. As cariopses de *D. californica* e *S. macrostachya* são permeáveis à TZ e não precisam ser seccionadas, o que facilita sua avaliação. Os protocolos da ISTA para viabilidade em Poaceae não são diretamente aplicáveis às espécies avaliadas, pois não consideram o tempo de imbibição do Cs, que foi de 3 a 4 horas. Recomenda-se o uso da concentração de 0.5 % de TZ e a avaliação 12 horas após o contato entre o Cs e a solução de TZ para as espécies avaliadas aqui.

Palavras-chave: danos ao embrião, ISTA, propágulos, sementes beneficiadas, vigor de sementes.

ABSTRACT

Few studies have evaluated seed quality in native to semi-arid zones' grasses. The objective was to validate published methodologies to carry out viability tests using Tetrazolium (TZ) test for caryopses (Cs) of *Bouteloua curtipendula*, *Leptochloa dubia*, *Digitaria californica*, *Setaria macrostachya* and *Pennisetum ciliare*, considering the imbibition time, TZ concentration and cut in the Cs. In addition, showing staining



patterns according to evaluated treatments. Viability and vigor data was expressed as percent and hence was transformed to arcsine. A completely randomized experimental design was carried out using a factorial arrangement: A) imbibition time before cutting; B), type of cut; C), TZ concentration, and Tukey's test ($p < 0.05$) for mean comparisons. The Cs longitudinal cut was the most adequate ($P < 0.05$), it allows observing Cs' embryonic structures and determining damaged sites; however, the Cs of *D. californica* and *S. machrostachya* are permeable to TZ and it was not necessary to section the Cs, which facilitates its evaluation. The ISTA protocols for viability in Poaceae are not directly applicable for the species evaluated, because the imbibition time for these species is not considered, which 3 to 4 hours was. It is recommended to use a 0.5 n% TZ concentration and evaluate 12 hours after the imbibition time between Cs and the TZ solution.

Keywords: embryonic damage, ISTA, propagules, benefited seed, seed vigor.

INTRODUÇÃO

Devido à degradação das pastagens, é necessário o estabelecimento de pastagens de sequeiro no semiárido com espécies nativas (Quero & Flores, 2023). Há poucos estudos sobre a qualidade das sementes de gramíneas para condições de sequeiro em áreas áridas (ISTA, 2016), apesar do registro institucional de variedades (SNICS- CNVV, 2023). Há uma grande diversidade de propágulos que podem ser utilizados para a semeadura de gramíneas em pastagens e é essencial conhecer a qualidade física, genética, sanitária e fisiológica do propágulo a ser utilizado (Quero *et al.*, 2017). O setor de sementes necessita de técnicas de análise eficazes para determinar a qualidade dos lotes de sementes e proporcionar segurança na tomada de decisões de semeadura e armazenamento. O teste de tetrazólio (cloreto de 2.3.5-trifenil tetrazólio; TZ) é um teste rápido usado para determinar a viabilidade e o vigor associados à capacidade de germinação, especialmente para lotes de sementes com alta dormência; no entanto, ele tem algumas desvantagens como: a interpretação da coloração é visual (subjetiva) e requer treinamento, especialmente para sementes pequenas (Lopez *et al.*, 2017). A avaliação com TZ envolve cortar e marcar Cs em um microscópio estéreo. A viabilidade é determinada de acordo com o padrão de coloração e a intensidade da coloração do embrião. Uma semente viável indica que ela é capaz de produzir uma muda normal (ISTA, 2016). Ao avaliar a Cs, a dormência é eliminada pelas brácteas acessórias; no entanto, no campo, o propágulo usado durante a semeadura é a espiguetta ou o galho; portanto, espera-se que a germinação seja lenta e menor. Esse teste discrimina entre tecido vivo e morto no eixo embrionário com base na atividade enzimática (desidrogenases), que aumenta quando hidrolisada durante a imbibição, levando à liberação de H^+ e, portanto, à redução química da solução de TZ (incolor) a formazan (vermelho).

A viabilidade é determinada pelo padrão de coloração do eixo embrionário e pela intensidade da coloração: Cs vivos e vigorosos apresentarão coloração vermelha intensa



e Cs mortos não apresentarão coloração. Para o teste de TZ, por hidratação, a atividade da desidrogenase e o amolecimento do tecido são induzidos nos Cs para facilitar o corte (longitudinal, transversal ou por punção) e, assim, permitir o contato do tecido embrionário com a TZ. Os Cs são imersos na TZ e mantidos no escuro, e a leitura pode ser feita de 2 a 18 horas depois (ISTA, 2016), dependendo da espécie avaliada. Um problema em Cs de Banderita *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr, Gigante *Leptochloa dubia* Kunth, Punta blanca *Digitaria californica* (Benth.) Henrard, Tempranero *Setaria macrostachya* Kunth e Buffel *Pennisetum ciliare* (L.) Link) e outras Poaceae, está na obtenção de material adequado (Cs) para o teste, que deve ser representativo da amostra a ser analisada; além disso, essas espécies não estão incluídas nos procedimentos propostos (ISTA, 2012); com exceção do Buffel, incluído nas planilhas de tetrazólio (ISTA, 2003). O objetivo foi validar os protocolos publicados para Poaceae, como *Avena sativa*, *Hordeum vulgare*, *Secale cereale*, *Triticum aestivum*, *Megathyrsus maximus* e *C. ciliaris*, esta última incluída como controle para propor especificações, ao usar o teste de TZ em Cs de Banderita, Gigante, Punta Blanca e Tempranero para tempo de imbibição, concentração de TZ e tipo de corte a ser aplicado nos Cs e para mostrar os padrões de coloração de acordo com os tratamentos realizados.

MATERIAL E MÉTODOS

As sementes foram colhidas no Colegio de Postgraduados em 2017, armazenadas em sacos de papel a 25 °C de temperatura e 15 % de umidade constante até a avaliação. As cariopses (Cs) obtidas por escarificação física de floretes, galhos e/ou espiguetas de Banderita, Gigante, Punta Blanca, Tempranero e Buffel foram avaliadas, removendo-se as Cs rasgadas ou danificadas, com o apoio de um microscópio estéreo (Zeiss, modelo 464002-9901). Foi utilizado um delineamento experimental completamente aleatório com arranjo fatorial: A) tempo de imbibição antes do corte (1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 e 12 h); B) tipo de corte (longitudinal, transversal e sem corte; ou seja, Cs completo); C) porcentagem de concentração de TZ (1, 0.5 e 0.1 %; V:V), 72 combinações ou tratamentos. A unidade experimental consistiu em um béquer com 25 Cs, com dez réplicas. Os resultados foram analisados pela Análise de Variância (ANAVA) com arranjo fatorial (SAS, 2013) e Tukey (P <0.05). Para o tempo de imbibição, os Cs foram colocados em béqueres com água destilada até ficarem completamente cobertos. Ao final de cada tempo de imbibição, os Cs foram cortados, de acordo com o tratamento, e a solução de TZ foi adicionada na concentração a ser avaliada até ser completamente coberta, no escuro, em temperatura ambiente (25° ± 2 °C) por 12 h; posteriormente, os Cs foram removidos da solução de TZ para avaliar a coloração, conforme recomendado para Cs pequenos (ISTA, 2016). As peças do eixo embrionário foram lavadas em água corrente e colocadas em papel

absorvente, previamente umedecido, o que evita a desidratação. Os padrões de coloração de Cs foram documentados, levando-se em consideração o tipo de corte (TC), a concentração de TZ (CTz) e o tempo de imbibição (h). A intensidade da pigmentação e o local no eixo embrionário foram analisados: a) sem coloração (sem cor), b) coloração inicial (tom rosa), c) coloração fraca (rosa forte), d) coloração adequada (vermelho) e e) vermelho intenso. Isso foi documentado por microscópio estéreo e fotografias da câmera do celular dos Cs. Os Cs foram classificados como viáveis (viáveis vigorosos e viáveis de médio vigor) e não viáveis, de acordo com a coloração em tecidos embrionários e como referência, protocolos de viabilidade publicados (ISTA, 2016; ISTA, 2003) e agrupados por interpretação (Delouche y Baskin, 1973; ISTA, 2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados os padrões de coloração e as estruturas importantes a serem consideradas em Cs viáveis e livres de defeitos (Figura. 1). A coloração observada é semelhante à da ISTA (2003), embora não expresse a totalidade dos danos observados nos Cs.

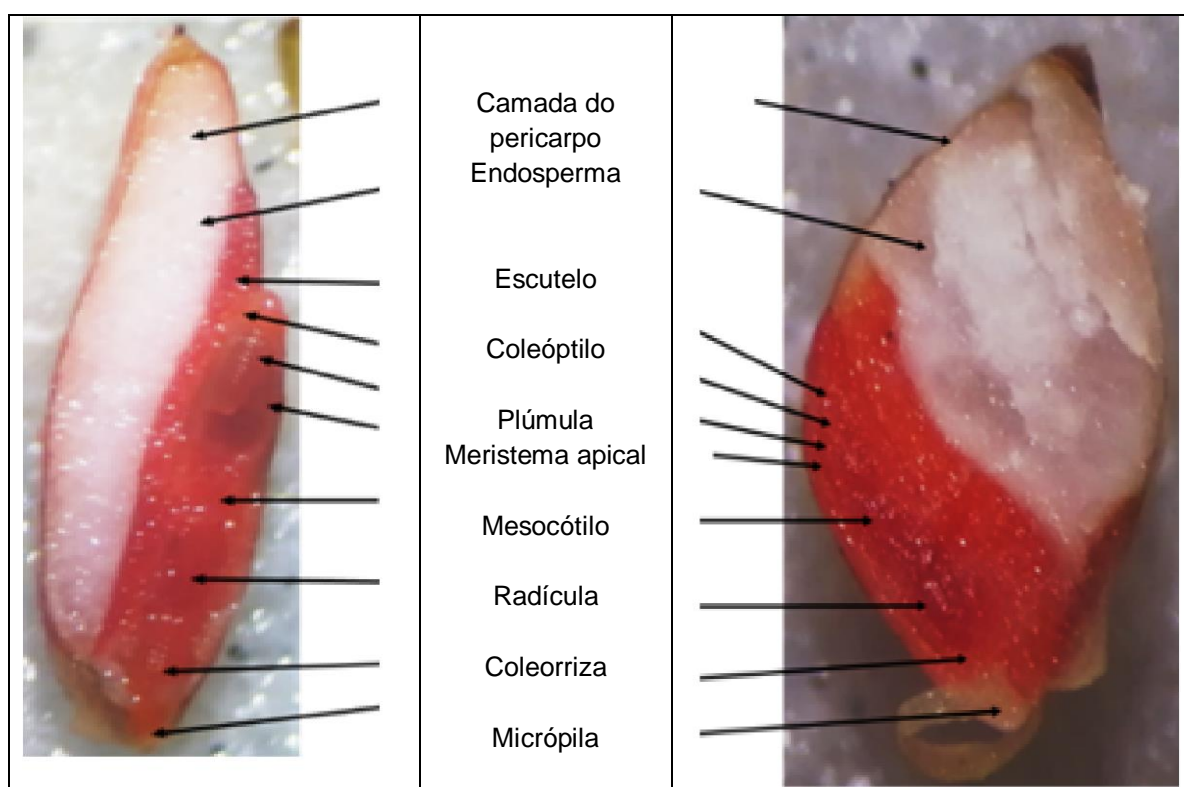


Figura 1. Cariopses viáveis de *Bouteloua curtipendula* (esquerda) e *Setaria macrostachya* (direita), completamente coradas com tetrazólio. As partes são mostradas acima do eixo embrionário, para determinação da viabilidade

Para facilitar a avaliação de Cs, três classes foram definidas de acordo com a área e a intensidade da coloração como um indicador de vigor: Classe 1. Embriões viáveis e vigorosos. Tecidos firmes, sem lesões visíveis e coloração uniforme de rosa a vermelho vivo. Danos superficiais leves localizados na parte externa do endosperma (Figura 2). Classe 2. Embriões viáveis com vigor médio. Cor rosa, com tecidos firmes. Eixo embrionário com danos internos leves e superficiais, radícula e plúmula descoloridas, com menos de 50 % de tecido morto (cor branca; Figura 2). Classe 3. Embriões inviáveis. Radícula e plúmula não coradas. Embrião com lesões ou áreas mortas no eixo embrionário. Inclui embriões com áreas de mais de 50 % de tecido morto (Figura 2).

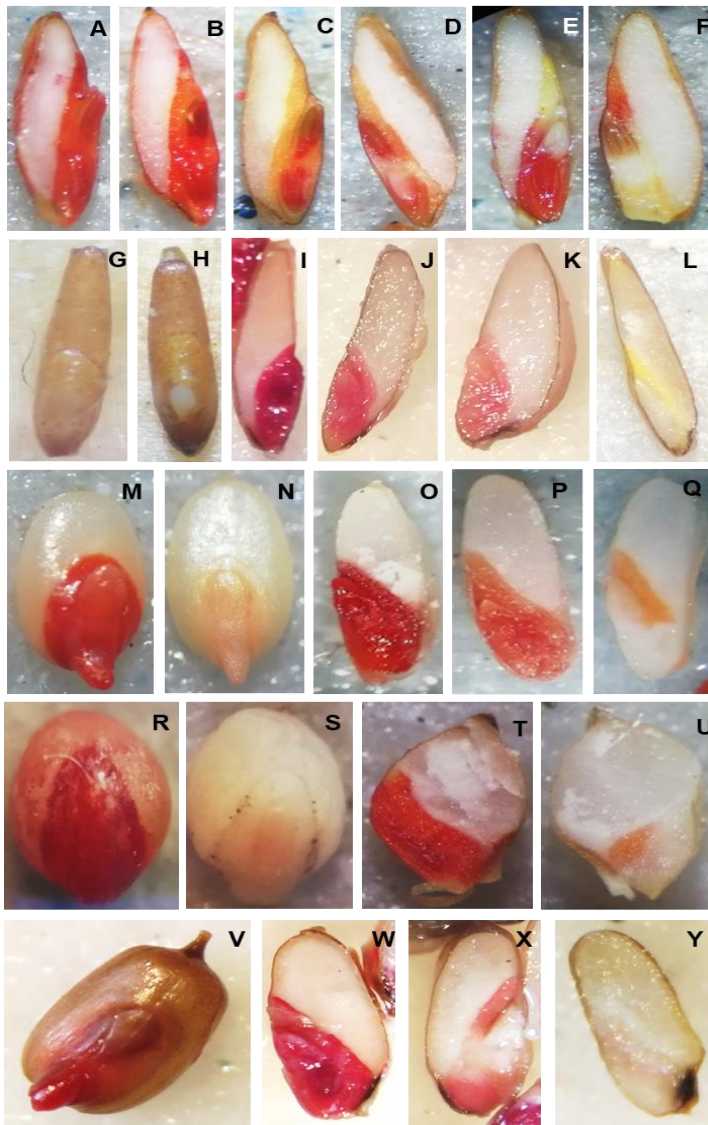


Figura 2. Cariopse completa e cortada longitudinalmente. São observados diferentes tecidos do eixo embrionário morto (sem coloração; F, L, Q, U, Y). A-F) Cs de Banderita; G-L) Cs de capim Gigante; M-Q) Cs de Punta Blanca; R-U) Cs de Tempranero; V-Y) capim Buffel



Banderita *Botueloua curtispindula* (Michx.) Torr. A ANAVA baseada em padrões de coloração para concentrações de TZ, corte (ou não) do eixo embrionário e tempo de imbibição mostrou diferenças ($P \leq 0.0001$) entre os fatores para Cs viáveis e vigorosos, vigor médio e inviáveis. As interações duplas mostraram diferenças ($P \leq 0.0001$) para TC x CTz, TC x h, CTz x h, para todas as variáveis. A interação tripla TC x CTz x h foi significativa ($P \leq 0.0001$). As concentrações de TZ de 0.5 % resultaram em 56 % de Cs viáveis e vigorosas e com 1 e 0.1 %: 51.8 e 44.3 % (Tabela 1). Ao analisar os tipos de corte em Cs, observou-se que as Cs são semipermeáveis à TZ, pois em Cs intactas apresentaram 39.8 % de Cs viáveis e vigorosas; portanto, é necessário fazer um corte para a avaliação ($P < 0.05$). Em relação ao tempo de imbibição das Cs, a Banderita aumentou o número de sementes viáveis e vigorosas em um tempo maior de imbibição ($P < 0.05$). Em uma hora de imbibição, foram observados 48 %, o que contrasta com 4 e 12 horas (52.9 e 53.1 %) de embriões viáveis e vigorosos. Recomenda-se imbuir por 4 horas e depois cortar os embriões.

Tabela 1. Resposta (%) às concentrações de tetrazólio (TZ), corte e tempo de imbibição (h) em cariopses de *Bouteloua curtispindula* (Michx.) Torr

Variável	Concentração de TZ (%)									
	1	0.5	0.1	Média	DMSH					
VV (%)	51.8 ^b	56.0 ^a	44.3 ^c	50.7	1.76					
VVM (%)	18.3 ^b	20.8 ^a	9.8 ^c	16.3	1.58					
NV (%)	29.9 ^b	23.2 ^b	45.8 ^a	33.0	2.21					
Corte da cariopse										
	Total	Longitudinal	Transversal	Média	DMSH					
VV (%)	39.8 ^c	57.9 ^a	54.5 ^b	50.7	1.76					
VVM (%)	13.3 ^c	15.5 ^b	20.2 ^a	16.3	1.58					
NV (%)	47.0 ^a	26.6 ^b	25.3 ^b	33.0	2.21					
Horas de imbibição										
	1	2	3	4	6	8	10	12	Média	DMSH
VV (%)	48.0 ^{bc}	47.9 ^c	51.6 ^{abc}	52.9 ^a	50.7 ^{abc}	50.0 ^{abc}	51.7 ^{ab}	53.1 ^a	50.7	3.73
VVM (%)	11.7 ^c	14.7 ^{bc}	15.0 ^{bc}	16.6 ^{ab}	19.0 ^a	18.7 ^a	17.8 ^{ab}	17.2 ^{ab}	16.3	3.36
NV (%)	40.3 ^a	37.4 ^{ab}	33.4 ^{bc}	30.6 ^c	30.3 ^c	31.3 ^c	30.6 ^c	29.7 ^c	33.0	4.68

± As médias com a mesma letra em cada linha são estatisticamente iguais (Tukey $p \leq 0.05$). VV= Viável vigoroso; VVM= Viável médio vigor; NV= Inviável

Gigante *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees. A ANAVA mostrou diferenças ($P \leq 0.0001$) entre os fatores para Cs viáveis e vigorosos, de vigor médio e não viáveis. As interações de duas vias mostraram significância ($P \leq 0.0001$) para TC x CTz, CTz x h para todas as variáveis e para a interação TC x h ($P \leq 0.005$). A interação de três vias TC x CTz x h foi significativa ($P \leq 0.0001$). A viabilidade e o vigor de Cs mostraram que as concentrações de TZ de 1 % resultaram em 65.9 % de Cs viáveis e vigorosos; enquanto que, com 0.5 e 0.1 %, foram obtidos 63.2 e 54.3 %, respectivamente (Tabela 2). Foi observada permeabilidade moderada do pericarpo à TZ; 51.7 % das sementes viáveis e vigorosas foram obtidas em Cs intactas e 73.6 e 58 % em Cs cortadas longitudinal e



transversalmente, respectivamente. O corte longitudinal resultou em uma avaliação correta nessa espécie ($P < 0.05$). Em uma hora de imbibição, foram observados 39.5 %; enquanto que às 4, 6 e 12 horas: 68.6, 12.4 e 68.9 % ($P < 0.05$) de embriões viáveis e vigorosos, respectivamente.

Tabela 2. Resposta (%) a diferentes concentrações de tetrazólio (TZ), corte e tempo de imbibição (h) em cariopses de *Leptochloa dubia* (Kunth)

Variável	Concentração de TZ (%)									
	1	0.5	0.1	Média	DMSH					
VV (%)	65.9 ^a	63.2 ^b	54.3 ^c	61.1	1.8					
VVM (%)	12.2 ^c	16.7 ^a	17.0 ^a	15.3	1.8					
NV (%)	21.9 ^b	20.1 ^b	28.7 ^a	23.6	2.1					
	Corte da cariopse				DMSH					
	Total	Longitudinal	Transversal	Média						
VV (%)	51.7 ^c	73.6 ^a	58.0 ^b	61.1	1.8					
VVM (%)	19.9 ^a	10.1 ^c	16.0 ^b	15.3	1.8					
Inviável (%)	28.4 ^a	16.3 ^c	26.0 ^b	23.6	2.1					
	Tempo de imbibição (horas)								Média	DMSH
	1	2	3	4	6	8	10	12		
VV (%)	39.5 ^c	42.8 ^c	65.0 ^b	68.6 ^{ab}	68.9 ^a	68.1 ^{ab}	67.7 ^{ab}	68.4 ^{ab}	61	3.9
VVM (%)	24.1 ^a	19.2 ^b	11.6 ^d	12.4 ^{cd}	12.0 ^{cd}	15.8 ^{bc}	16.6 ^b	10.9 ^d	15	3.9
NV (%)	36.4 ^a	38.0 ^a	23.4 ^b	19.0 ^{cd}	19.1 ^{bcd}	16.1 ^d	15.8 ^d	20.7 ^{bc}	23	4.4

± As médias com a mesma letra em cada linha são estatisticamente iguais (Tukey $p \leq 0.05$). VV= Viável vigoroso; VVM= Viável médio vigor; NV= Inviável

Punta blanca *Digitaria californica* (Benth.) Henrard. A coloração com ANAVA mostrou diferenças ($P \leq 0.0001$) entre os fatores avaliados para Cs viáveis e vigorosos, de vigor médio e inviáveis, exceto para TC ($P > 0.05$). Nas interações duplas TC \times CTz ($P \leq 0.006$), TC \times h ($P \leq 0.03$), para Cs vivos e vigorosos, CTz \times h e ($P \leq 0.0003$) para Cs viáveis de vigor médio. A interação de três vias TC \times CTz \times h foi significativa ($P \leq 0.0001$). A viabilidade e o vigor de Cs a 1 % de CTz foram de 83.2 % de Cs viáveis e vigorosas; enquanto que, a 0.5 e 0.1 %, foram obtidos 80.4 e 72.4 %, respectivamente (Tabela 3). Os cortes de Cs mostraram 76.6 % de sementes viáveis e vigorosas, 4.2 e 2.5 % a menos do que as Cs inteiras e cortadas transversalmente; isso permite o uso de Cs inteiras ($P < 0.05$). A permeabilidade da testa à TZ precisa ser monitorada, pois pode estar relacionada ao vigor. Tempranero e Punta blanca apresentaram menor viabilidade com tempo de imbibição mais longo: Cs com uma hora de imbibição apresentou 93.8 % e com 4, 8 e 12 horas: 83.70 e 61 % de embriões viáveis e vigorosos, respectivamente.

Tempranero *Setaria macrostachya* (Kunth) inicial. A ANAVA dos padrões de coloração obtidos na avaliação de CTz e h de imbibição mostrou diferenças ($P \leq 0.0001$), exceto para CT ($P \leq 0.0243$) para Cs viáveis e vigorosos, de vigor médio e inviáveis. As interações bidirecionais mostraram significância ($P \leq 0.0001$) para TC \times CTz, CTz \times h, mas não para TC \times h ($P \leq 0.0007$, 0.0327 e 0.0009 para Cs viáveis e vigorosas, com



vigor médio e inviáveis, respectivamente). A interação de três vias TC × CTz × h foi significativa ($P \leq 0.0007$; $P \leq 0.0175$, para Cs viáveis e vigorosos, com vigor médio), mas foi altamente significativa para Cs inviáveis. A viabilidade e o vigor dos Cs apresentaram diferenças ($P \leq 0.02$) nas concentrações de 0.5 % de TZ, com 6.7 e 8.3 % mais Cs viáveis e vigorosos, em comparação com as concentrações de 1 e 0.01 % de TZ (Tabela 4). O mesmo comportamento foi observado para Cs de viabilidade e vigor médios, com coloração rosa fraca e tecido corado inteiramente no eixo embrionário. Ao avaliar os tipos de corte de Cs, foram obtidas diferenças ($P \leq 0.0001$) e observou-se que o Cs dessa espécie é permeável à TZ. Em Cs íntegras, obteve-se 31.1 % de sementes viáveis e vigorosas, apenas 1.9 e 1.3 % a mais do que em Cs submetidas a cortes longitudinais e transversais; portanto, é possível realizar o teste em Cs íntegras. Em relação à imbibição das Cs, foram observadas diferenças ($P \leq 0.0001$), quando as Cs foram imersas em água destilada por 4, 8 e 12 horas, foram registrados 28.9, 15.4 e 9.6 % de embriões viáveis e vigorosos, em comparação com aquelas submetidas a uma hora de imbibição, com 58.3 % de embriões viáveis e vigorosos. Quanto maior o tempo de imbibição, a Cs apresentou aborto de embriões. É importante mencionar que essa semente é especialmente delicada e suscetível à escarificação manual, o que dificulta a obtenção de Cs intactas para teste; portanto, as Cs intactas são uma boa alternativa.

Tabela 3. Resposta (%) a diferentes concentrações de tetrazólio (TZ), tempo de corte e de imbibição (h) em cariopses de *Digitaria californica* (Benth.) Henrard

Variável	Concentração de TZ (%)					DMSH				
	1	0.5	0.1	Media						
VV (%)	83.2 ^a	80.4 ^b	72.4 ^c	78.7	1.8					
VVM (%)	11.0 ^b	8.8 ^c	14.4 ^a	11.4	1.7					
NV (%)	5.88 ^c	10.9 ^b	13.2 ^a	10.0	1.9					
Corte da cariopse										
	Total	Longitudinal	Transversal	Media	DMSH					
VV (%)	76.6 ^c	81.0 ^a	78.4 ^b	78.7	1.8					
VVM (%)	11.5 ^a	11.4 ^a	11.2 ^a	11.4	1.7					
NV (%)	12.0 ^a	7.8 ^b	10.2 ^a	10.0	1.9					
Tempo de imbibição (horas)										
	1	2	3	4	6	8	10	12	Media	DMSH
VV (%)	93.8 ^a	90.7 ^{ab}	87.6 ^b	82.9 ^c	76.7 ^d	69.7 ^e	67.4 ^e	60.6 ^f	78.65	3.76
VVM (%)	2.9 ^e	4.2 ^{de}	7.0 ^{cd}	10.0 ^c	9.8 ^c	15.4 ^b	18.9 ^b	22.7 ^a	11.36	3.64
NV (%)	3.3 ^b	5.1 ^b	5.4 ^b	7.1 ^b	13.6 ^a	14.9 ^a	13.7 ^a	16.8 ^a	9.99	3.94

± As médias com a mesma letra em cada linha são estatisticamente iguais (Tukey $P \leq 0.05$). VV= Viável vigoroso; VVM= Viável médio vigor; NV= Inviável

Buffel (*Pennisetum ciliare* (L.) Link. A ANAVA dos padrões de coloração observados mostrou diferenças ($P \leq 0,0001$) entre os fatores avaliados para Cs viáveis e vigorosos, de vigor médio e não viáveis. As interações duplas mostraram alta significância ($P \leq 0.0001$) para TC × CTz, TC × h, CTz × h para todas as variáveis. Mas o mesmo não ocorreu com a interação tripla TC × CTz × h ($P < 0.0117$; $P < 0.0004$; $P < 0.0003$; para



Cs viáveis e vigorosas, de vigor médio e inviáveis, respectivamente). A viabilidade e o vigor em Cs de Buffel mostraram que, com TZ a 0.5 %, foram obtidos 30.5 % de Cs viáveis e vigorosos; enquanto que, com 1 e 0.1 %, 27.7 e 30.1 %, respectivamente (Tabela 5). Ao analisar diferentes cortes de Cs, observou-se que a testa não é permeável à TZ; portanto, qualquer tipo de corte pode ser usado para a avaliação correta ($P < 0.05$). O tempo de imbibição do Cs é importante para essa espécie: em uma hora de imbibição, 21.4 % foram observados; enquanto que, em 12 horas, 37.2 % dos embriões eram viáveis e vigorosos. Portanto, as doze horas estabelecidas para a leitura permitem uma avaliação correta.

Tabela 4. Resposta (%) a diferentes concentrações de tetrazólio (TZ), corte e tempo de imbibição (h) em cariopses de *Setaria macrostachya* (Kunth)

Variável	Concentração de TZ (%)				Média	DMSH				
	1 %	0.5 %	0.1 %							
VV (%)	28.3 ^b	35.0 ^a	26.8 ^b		30.0	1.6				
VVM (%)	15.8 ^b	21.3 ^a	14.9 ^b		17.4	1.8				
NV (%)	55.9 ^b	43.7 ^c	58.3 ^a		52.6	2.3				
Corte da cariopse										
	Sem corte	Longitudinal	Transversal		Média	DMSH				
Viável e vigoroso (%)	31.1 ^a	29.2 ^b	29.8 ^{ab}		30.0	1.7				
Vigor médio viável (%)	21.6 ^a	16.1 ^b	14.3 ^c		17.4	1.8				
Inviável (%)	47.3 ^b	54.7 ^a	55.9 ^a		52.6	2.3				
Tempo de imbibição (h)										
	1	2	3	4	6	8	10	12	Média	DMSH
VV (%)	58.3 ^a	52.3 ^b	40.0 ^c	28.9 ^d	24.2 ^e	15.4 ^f	11.4 ^g	9.6 ^g	30.0	3.5
VVM (%)	13.8 ^{de}	16.9 ^{cd}	23.1 ^b	27.1 ^a	18.1 ^c	15.3 ^{cde}	12.8 ^e	11.7 ^e	17.4	3.8
NV (%)	27.9 ^f	30.8 ^f	36.9 ^e	44.0 ^d	57.7 ^c	69.2 ^b	75.8 ^a	78.8 ^a	52.6	4.9

± As médias com a mesma letra em cada linha são estatisticamente iguais (Tukey $p \leq 0.05$). VV= Viável vigoroso; VVM= Viável médio vigor; NV= Inviável

Tabela 5. Resposta (%) a diferentes concentrações de tetrazólio (TZ), corte e tempo de imbibição (h) em cariopses de *Pennisetum ciliare* (L.) Link

Variável	Concentração de TZ (%)				Média	DMSH				
	1	0.5	0.1							
VV (%)	27.7 ^b	30.5 ^a	30.1 ^a		29.5	1.7				
VVM (%)	8.2 ^c	15.0 ^a	10.3 ^b		11.2	1.5				
NV (%)	64.1 ^a	54.5 ^c	59.5 ^b		59.4	2.0				
Corte da cariopse										
	Total	Longitudinal	Transversal		Média	DMSH				
VV (%)	0.0 ^b	44.8 ^a	43.6 ^a		29.5	1.7				
VVM (%)	1.2 ^c	17.6 ^a	14.7 ^b		11.2	1.5				
NV (%)	98.8 ^a	37.6 ^c	41.7 ^b		59.4	2.0				
Tempo de imbibição (horas)										
	1	2	3	4	6	8	10	12	μ	DMSH
VV (%)	21.4 ^d	22.4 ^d	24.8 ^{cd}	26.4 ^c	30.0 ^b	36.1 ^a	37.2 ^a	37.2 ^a	29.5	3.5
VVM (%)	17.2 ^a	13.8 ^b	10.2 ^{cd}	11.8 ^{bc}	11.6 ^{bc}	8.7 ^{cd}	7.2 ^d	9.0 ^{cd}	11.2	3.3
NV (%)	61.3 ^{ab}	63.8 ^a	65.0 ^a	61.8 ^{ab}	58.4 ^{bc}	55.2 ^{cd}	55.6 ^{cd}	53.8 ^d	59.4	4.3

± As médias com a mesma letra em cada linha são estatisticamente iguais (Tukey $p \leq 0.05$). VV= Viável vigoroso; VVM= Viável médio vigor; NV= Inviável



Para as concentrações de TZ testadas, os embriões adquiriram tonalidades adequadas para a contagem final e, em nenhuma concentração testada, foi observado vermelho intenso nos tecidos embrionários, o que teria impedido a identificação de danos às estruturas embrionárias. Os Cs expostos a concentrações de TZ de 0.1, 0.5 e 1 % por 12h, mostraram-se adequadas, dados os resultados semelhantes, uma vez que os tecidos vivos e vigorosos adquiriram coloração uniforme; isso indica que os tecidos em contato com a TZ reagiram com o H⁺ produto da respiração celular, o que facilita a coloração rosa rápida e uniforme; por esse motivo, o teste da TZ é considerado um método colorimétrico confiável, pois indica a presença de enzimas ativas: peroxidase, esterase e desidrogenase (Carvalho *et al.*, 2013); no entanto, isso contradiz o que foi encontrado na cevada, onde foi observada uma coloração fraca independente do tempo de imbibição (Lopez *et al.*, 2017).

Em Poaceae, plantas forrageiras como: *Urochloa* spp., *Chloris gayana*, *Dactylis* spp., *Panicum* spp. e *B. gracilis*, entre outras, as regras da ISTA (ISTA 2003; ISTA, 2012) afirmam que espiguetas sem Cs (semente verdadeira) devem ser consideradas inviáveis, mas não especificam como expressar floretes vazios ao realizar o teste de viabilidade por TZ. Alguns autores afirmaram que a ISTA exige, para a avaliação da pureza, a determinação da porcentagem de florzinhas cheias com cariópse dentro (Agüero *et al.*, 2017). Sugere-se, antes da coloração, fazer cortes nos Cs, de modo que os tecidos sejam expostos à TZ (ISTA, 2012); no entanto, não se refere ao tempo ideal de imbibição dos Cs para o amolecimento dos tecidos (testa e endosperma) para fazer um corte preciso e, portanto, uma metodologia padronizada, correta e repetível. Para Cs pequenas, deve ser realizado o corte longitudinal ou transversal; no entanto, não se considera a possibilidade de algumas espécies terem testa permeável à TZ; isso porque o corte permite a avaliação e a diferenciação de sementes mortas das dormentes (Navarro *et al.*, 2015). Vários fatores podem influenciar os resultados do teste de TZ, muitos relacionados à metodologia utilizada; além disso, a concentração de TZ na solução, o tempo e a temperatura de exposição à TZ e os critérios de interpretação (Lopez *et al.*, 2017; Pereira *et al.*, 2017; Steinbrecher & Leubner, 2017). Portanto, a determinação correta dos padrões de coloração (Figura 2 a Figura 8) nos Cs, em diferentes concentrações de coloração e tempos de imbibição, aplicável para avaliar as estruturas do eixo embrionário com base na coloração obtida, permitirá estabelecer rapidamente a qualidade do lote de sementes. Em condições de campo, uma taxa de imbibição mais alta pode ser vantajosa para a semente porque o endosperma leva mais tempo para se hidratar do que o embrião (Carvalho *et al.*, 2013; Lopez *et al.*, 2017). Os protocolos de *Panicum* (ISTA, 2012) não são aplicáveis a Banderita, Gigante, Punta Blanca, Tempranero e Buffel porque o tempo de imbibição é específico para cada espécie. Fazer cortes corretos na Cs envolve treinamento, o que permite observar estruturas mortas ou necróticas no eixo embrionário,



o que está de acordo com Agüero *et al.* (2017) para Buffel. As concentrações de TZ dependerão da espécie e do tamanho da Cs. Para *Solanum lycopersicum* e *Mimosa bimucronata*, essa concentração é de 0.075 % (Salazar *et al.*, 2020; Ferreira *et al.*, 2020), em 17 espécies dos altos Andes, verificou-se que a melhor condição de avaliação foi de 1 a 1.5 % de TZ, 40 °C e 24 horas de exposição à solução (Mancipe *et al.*, 2018); enquanto que, para a cevada, recomenda-se o pré-condicionamento das sementes em imersão direta em H₂O e coloração por imersão em concentração de 0.1 % ou 0.5 % de TZ ou coloração em papel de filtro umedecido com 1.0 % de TZ (Lopez *et al.*, 2017). Em trigo, recomenda-se o pré-condicionamento da semente em papel toalha por 18 horas a 20 °C e, posteriormente, a coloração com TZ pode ser eficiente de 0.075 a 1.0 % (Carvalho *et al.*, 2013). Em *Cucumis anguria*, recomenda-se realizar o teste de viabilidade na concentração de 0.05 % por seis horas a 35 °C ou quatro horas a 40 °C (Pereira *et al.*, 2017). Isso mostra a importância de propor especificações de acordo com a espécie de interesse, pois todas elas respondem a diferentes concentrações de TZ.

CONCLUSÕES

Os protocolos da ISTA para viabilidade em Poaceae não são diretamente aplicáveis a *B. curtipendula*, *L. dubia*, *D. californica*, *S. macrostachya* e *C. ciliaris*. O tempo de imbibição para essas espécies é de 3 a 4 horas; recomenda-se usar 0.5 % de TZ e avaliar 12 horas após o início do contato Cs-TZ. A seção longitudinal completa é adequada para uma avaliação correta das estruturas embrionárias nessas espécies. Punta Blanca e Tempranero têm uma testa permeável à TZ, portanto, é possível realizar a avaliação com Cs intacto.

LITERATURA CITADA

AGÜERO CG, Pereyra GR, Rol RO. 2017. Método alternativo de germinación para determinar la calidad de semillas en Buffel Grass (*Cenchrus ciliaris* L.). *AgriScientia*. 34(1):47-58. <https://doi.org/10.31047/1668.298x.v36.n2.24833>

CARVALHO CT, Krzyzanowski FC, Castro OO, Panobianco M. 2013. Tetrazolium test adjustment for wheat seeds. *Journal of Seed Science*. 35(3): 361-367. <https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000300013>

DELOUCHE J, Baskin CC. 1973. Accelerated ageing techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Science and Technology*. 1: 427-452. <https://scholarsjunction.msstate.edu/seedtechpapers/10>



ISTA (International Seed Testing Association). 2003. International Rules for Seed Testing. Working Sheets on Tetrazolium Testing. Volume 1. Zürich. ISBN: 9783906549408. <https://www.seedtest.org/en/handbooks-calibration-samples/working-sheets-on-tetrazolium-testing-volume-i-1st-edition-2003-product-1037.html>

ISTA (International Seed Testing Association). 2012. International Rules for Seed Testing. Seed Sci. and Technology 31, Supplement. Zürich. <https://www.yumpu.com/en/document/view/27323745/international-rules-for-seed-testing-2012-international-seed->

ISTA (International Seed Testing Association). 2016. International Rules for Seed Testing. Zürichtr. 50, CH-8303 Bassersdorf, Suiza. https://www.merconet.eu/files/Seed_Sampling_I_S_T_A.pdf

LOPEZ del EL, Navarro MD, Martinez HV, Toorop PE, Lannetta PPM. 2017. A spectrophotometric assay for robust viability testing of seed batches using 2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride: Using *Hordeum vulgare* L. as a model. *Front Plant Sci.* 16(8):747. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00747>

MANCIPE MC, Calderón HM, Pérez MLV. 2018. Evaluación de viabilidad de semillas de 17 especies tropicales altoandinas por la prueba de germinación y de tetrazolio. *Caldasia.* 40(2):366. ISSN 0366-5232. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v40n2.68251>

FERREIRA de AMLD, Andrade MJL, Ferreira V, Araujo NJ. 2020. Viability *Mimosa bimucronata* (DC.) O. Kuntze. seeds by the tetrazolium test and oil content. *Diversitas Journal.* 5(3):1575–1587. ISSN 2525-5215. <https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v5i3-846>

NAVARRO M, Febles G, Herrera RS. 2015. Vigor: essential element for seed quality. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola.* 49(4): 447-458. ISSN: 0034-7485. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193045908003>

PEREIRA de PE, Barros TS, Nobre de AJP, Vanies da SSF, Torquato ORR. 2017. Tetrazolium test for the viability of gherkin seeds. *Ciência Agrônômica.* 48(1): 118-124. ISSN: 0045-6888. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=195347767013>



QUERO CAR, Hernández GFJ, Pérez RP, Hernández LA, García de los SG, Landa SP, Ramírez SSE. 2017. Germinación de cariópsides clasificados por tamaño y diásporas de cuatro pastos para temporal semiárido. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 8(3): 489-502. ISSN 2007-0934. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i3.26>

QUERO CAR, E Flores A. 2023. Gramíneas Nativas: Importancia e Impacto en Ecosistemas Ganaderos. Serie Biblioteca Básica de Agricultura. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Pp. I-III. ISBN: 978-607-715-461-7

SALAZAR MSA, Botello DEA, Quintero CJD. 2020. Tetrazolium test optimization to evaluate the viability in *Solanum lycopersicum* L. seeds. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 21(3): e1344. ISSN: 0122-8706. ISSNe: 2500-5308.
https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1344

SNICS (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas). 2023. Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (CNVV) 2022.
<https://www.gob.mx/snics/articulos/catalogo-nacional-de-variedades-vegetales-cnvv-2022>

STEINBRECHER T, Leubner MG. 2017. The biomechanics of seed germination. *J of Experimental Botany*. 68(4): 765–783. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw428>

SAS (Statistical Analysis Software). 2013. Users' Guide Statistics Version 9.4. SAS Institute Inc., Cary.
[https://www.scirp.org/\(S\(czeh2tfqw2orz553k1w0r45\)\)/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2911957](https://www.scirp.org/(S(czeh2tfqw2orz553k1w0r45))/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2911957)

[Errata Erratum](#)

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanico-version-nueva/index.php/abanico-veterinario/errata>