



## Teste de tetrazólio como rotina para avaliar germinação em sementes de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.)

Maria Angelica Moreira Silveira<sup>1</sup>

**Resumo** - O azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) é uma espécie forrageira importante para suprir as necessidades de alimentação dos rebanhos no inverno em toda a região sul do Brasil. A análise da qualidade das sementes desta espécie pode demorar até 28 dias, pelo método do teste de germinação e o teste de tetrazólio permite que, em três dias, a avaliação seja realizada. O objetivo deste estudo foi verificar a segurança do teste de tetrazólio para avaliar a germinação das sementes de azevém, possibilitar e difundir o emprego deste teste, como rotina, nos laboratórios de análise de sementes. Foram obtidos dados de análise de germinação e tetrazólio em amostras de 929 lotes de sementes de 1994, até 2004 nas fichas de análise no Laboratório de Análise de Sementes - LASO/FEPAGRO. Os testes foram realizados de acordo com as Regras para Análise de Sementes. Os resultados obtidos nos dois testes mostraram que de 1055 análises em sementes de azevém, 922 foram pelo teste de germinação e 133, pelo teste de tetrazólio. As amostras nas quais os dois testes foram realizados, tiveram seu resultado comparado através do teste t. Verificou-se, após a comparação, que a diferença de 4% entre os resultados obtidos nos dois testes não foi significativa. Concluiu-se que é possível a utilização do teste de tetrazólio, com eficiência e rapidez, como um teste de rotina para avaliar a germinação das sementes de azevém.

**Palavras-chave:** azevém, sementes, tetrazólio, germinação.

## Tetrazolium test as an alternative to evaluate germination in ryegrass seeds (*Lolium multiflorum* Lam.)

**Abstract** - Ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) is an important forage to supply necessities of pasture in winter in all the south region of Brazil. The germination test for this species can delay up to 28 days and the tetrazolium test may allows in three days the evaluation. The objective of this study was to verify the security of tetrazolium test to evaluate germination ryegrass seeds and to make possible and to spread out this test as routine in the seed testing laboratories of analysis of seeds. Data from germination and tetrazolium test were obtained from samples of 929 seeds lots of 1994 up to 2004 in the fichas of analysis in the Seed Testing Laboratory of LASO/FEPAGRO. The tests were carried through in accordance with the Rules for Testing Seeds. The results shown that over 1055 analyses in ryegrass seeds, 922 were germination tested and 133, tetrazolium tested. The samples in which the two tests were carried out, were compared by the test t. A difference of 4% between the two tests was not significant. It was concluded that the use of the tetrazolium test is possible, with efficiency and rapidity, as a routine test to evaluate the quality of ryegrass seeds.

**Key words:** ryegrass, seeds, tetrazolium, germination.

### Introdução

O azevém é uma espécie muito utilizada como forrageira no sul do Brasil, para suprir as necessidades dos rebanhos bovino e ovino no período de inverno. Desta forma há uma demanda real por sementes de azevém. O Estado do Rio Grande do Sul possui alto grau de desenvolvimento

tecnológico no setor da pecuária de corte no Brasil. Porém, não se tem obtido rendimentos satisfatórios em peso, pois a base da alimentação da pecuária de corte no Rio Grande do Sul é o campo nativo, composto basicamente por espécies de crescimento estival, com concentração da produção de forragem no verão, paralisação do crescimento e decréscimo da qualidade da forragem no outono-inverno, constituindo-

1. Eng. Agr. Dra.- FEPAGRO- Rua Gonçalves Dias, 570, 90130-060, Porto Alegre, RS  
Recebido em 26/07/2006



se num dos principais entraves para a elevação dos índices produtivos do rebanho bovino (ROSO et al., 2000; ALVES FILHO et al., 2003). A espécie também é referida como planta de cobertura e melhoradora do solo, muito utilizada nos Campos Gerais (Paraná) na rotação com a soja, proporcionando o controle de plantas invasoras e diminuição da aplicação de herbicidas no sistema plantio direto (BARNI et al., 2003).

Os índices de produtividade das pastagens cultivadas são influenciados pelas condições edafo-climáticas. Além do potencial genético da cultura e do meio ambiente, a produção é influenciada, entre outros fatores, por qualidade da semente, época de semeadura, população de plantas, preparo e correção do solo, controle de plantas daninhas, pragas e doenças e o grau de fertilização dos solos (MÜHLBACH, 1998). Entretanto, observa-se que muitos lotes de sementes comercializados não apresentam qualidade adequada para o estabelecimento rápido e uniforme de uma pastagem, em função de problemas que ocorrem na produção como: presença de sementes de espécies invasoras, excesso de material inerte, sementes chochas ou vazias e porcentagem de germinação abaixo do padrão exigido para comercialização.

É fundamental conhecer a qualidade dos lotes antes da implantação da pastagem para previsão da quantidade necessária de sementes e evitar gastos desnecessários. Isto é feito, normalmente, através do teste de germinação que pode demorar até 14 dias para a obtenção de resultados ou teste de tetrazólio que é um método rápido (dois dias), mas mais complexo na sua interpretação. Segundo Grabe (1976), o teste de tetrazólio foi desenvolvido para prover estimativas rápidas da viabilidade das sementes. Tais estimativas são úteis para facilitar a compra e o manuseio de sementes, testes de lotes de sementes dormentes, testes preliminares no trabalho de controle das sementes, avaliar lotes de sementes quanto ao vigor, suplementar testes de germinação e diagnosticar causas de deterioração das sementes. E, conforme Menezes (2001), o método rotineiro para determinar a qualidade das sementes (muitas vezes, o único) é o teste de germinação que, embora muito útil, não informa sobre o vigor, longevidade e emergência em campo. Além disso, necessita um prazo de 7 a 28 dias para informar os resultados, período considerado longo, para atender aos interesses comerciais dos produtores de sementes. O teste de tetrazólio (TZ) é rápido e de grande importância para a avaliação da qualidade das sementes, porque, além da viabilidade, pode informar sobre o vigor e, ainda, identificar diversos problemas que afetam o desempenho das sementes.

O objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência do teste de tetrazólio para avaliar a qualidade das sementes de azevém e a possibilidade de sua utilização como teste de rotina em análise de sementes.

## Material e Métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Sementes da FEPAGRO com a coleta dos dados: número de amostras de lotes de sementes de azevém recebidos anualmente, número de análises (Tetrazólio e Germinação) e número total destes testes realizados nestes lotes desde 1994 até 2004 (Tabela 1).

Os testes de germinação e tetrazólio foram realizados de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), usando-se para o teste de germinação quatro repetições de 100 sementes em caixas Gerbox e como substrato papel mata-borrão. Após o preparo, as caixas foram colocadas dentro de sacos plásticos em pré-esfriamento por 5 dias à temperatura de 5°C, para superação da dormência. No final deste período as caixas foram retiradas dos sacos plásticos e colocadas em incubação em B.O.D. por um período de 14 dias em temperatura 20-30°C e fotoperíodo alternado. Aos 14 dias as plântulas foram avaliadas. O teste de tetrazólio foi executado, deixando as quatro repetições de 100 sementes embebidas e incubadas em 25°C por um

**Tabela 1** - Número de amostras, e de análises (Germinação e Tetrazólio) e Total de Análises realizadas em lotes de sementes de azevém recebidas no LASO/FEPAGRO, no período de 1994 até 2004.

Ano	Nº Amostras	Nº Análises		Nº Total de análises
		Germinação	Tetrazólio	
1994	19	19	01	20
1995	61	58	07	65
1996	110	109	06	115
1997	62	62	10	72
1998	65	65	09	74
1999	85	85	13	98
2000	100	100	31	131
2001	67	66	12	78
2002	69	69	25	94
2003	96	95	14	109
2004	195	194	05	199
Total	929	922	133	1055
CV(%)	52	65	94	47

LASO – Laboratório de Análise de Sementes Oficial  
FEPAGRO – Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul

período de 18h. Após este período, foi realizado o corte longitudinal das sementes para expor o embrião e a metade da semente, seccionada e utilizada para avaliação, foi embebida em solução de trifetil cloreto de tetrazólio (0,5%) por um período de 4h, em 30°C. Após este período, as sementes foram lavadas e distribuídas em papel mata-borrão umedecido com água destilada. Lupas foram utilizadas para observação da coloração das sementes. As sementes que apresentaram embrião com coloração rosa a vermelho vivo, foram consideradas viáveis. Os resultados dos testes de germinação e tetrazólio foram expressos em média das porcentagens obtidas nas quatro repetições.

Foram feitas tabelas com as médias anuais do teste de germinação e teste de tetrazólio e estabelecida uma comparação entre os dois testes. As médias foram comparadas pelo teste t em 5% de probabilidade e os resultados expressos em porcentagem.

## Resultados e Discussão

No período de 1994 a 2004 foram recebidas 929 amostras de lotes de sementes de azevém, nos quais foram realizadas 1055 análises, sendo 133 testes de tetrazólio e 922 testes de germinação (Tabela 1). Há oscilação no número de amostras recebidas a cada ano, o que pode decorrer de uma demanda variável por sementes de azevém em função do aproveitamento das áreas de pastoreio para produção de semente própria. Segundo Ahrens e Oliveira (1997), em função da expansão da área cultivada com azevém, têm crescido a demanda por sementes e seu preço também se elevado, de forma considerável. Assim, para precaver-se contra a possível falta e reduzir o custo de produção na propriedade, consideram importante que se produza semente própria, aproveitando a área destinada à alimentação animal.

O número de testes de germinação (922) requisitados pelos produtores e pesquisadores é bem superior ao de tetrazólio (133) realizados, respectivamente, em 99,2% e 14,3% das amostras recebidas, isto acontece porque há desconhecimento do teste de tetrazólio, e dificuldade na compreensão dos resultados e sua relação com o teste de germinação.

Embora haja variação no número de amostras de sementes de azevém recebidas no LASO/FEPAGRO, esse vem aumentando (Figura 1). A média dos últimos três anos, 2002, 2003 e 2004, ficou em 120 amostras e indica que houve um incremento no número de amostras recebidas com relação à média de 63,3 amostras, dos anos 1994, 1995 e 1996, no início da coleta de dados. Esses resultados indicam elevação no número de análises em sementes de azevém, justificada pela importância desta espécie forrageira na região sul do Brasil pois, conforme Carámbula (1977), o azevém cobre mais eficientemente que outras espécies, a crise invernal de pastagens e apresenta elevado rendimento na primavera, tendo um lugar importante para atender as necessidades de ovelhas no final da gestação e engorde de

cordeiros ou novilhos. Este recomenda que, para obter êxito na instalação da pastagem, entre vários fatores, importantes e controláveis pelo produtor, merece atenção especial, o conhecimento da semente que se vai semear.

Houve maior número de amostras recebidas em 1996 (110 amostras), 2000 (100 amostras) e 2004 (195 amostras) (Tabela 1) do que em outros anos. Pode-se inferir que os picos de recepção de amostras ocorreram devido à necessidade de produção em função da escassez, baixa qualidade e preço elevado das sementes de azevém nos anos anteriores pois, segundo Aranha et al. (2003), o azevém anual é uma espécie forrageira amplamente difundida no sul do Brasil, mas nestes estados (RS e SC) a produção de sementes é obtida de áreas destinadas ao pastoreio e, posteriormente, diferidas para colheita de semente. Neste sistema de manejo tem-se, além de um menor rendimento, baixa qualidade fisiológica das sementes, o que atualmente se torna antieconômico devido ao alto preço de comercialização da semente.

As médias gerais de germinação e tetrazólio, desde 1994 até 2004 são, respectivamente, 58% e 62% (Tabela 2). Considerando as normas e padrões elaborados pela CSM/RS para produção de sementes de azevém, a germinação mínima para a comercialização de sementes fiscalizadas é 70%. Este valor está 12% acima da média total das amostras recebidas nos últimos 11 anos (58%). Embora no trabalho de avaliação da qualidade de sementes de azevém-anual realizado por Fonsêca et al. (1997), tenha apresentado como resultado na safra agrícola 95/96, que 79% das amostras estavam dentro dos padrões oficiais de germinação, foram relatadas que apenas 54% das amostras atenderam aos padrões para pureza física e vigor. Ainda, o trabalho foi realizado em um ano em que, no LASO/FEPAGRO, foram recebidas amostras que apresentaram melhores resultados de germinação. E, além disso, utilizado um número de observações limitado (99 amostras), em relação a amostragem deste estudo. O número maior de observações utilizados neste trabalho permitiu que se obtivesse maior precisão nos resultados.

Nos anos de 1996 (110 amostras) e 2000 (100 amostras), os maiores números de amostras foram recebidas no LASO/FEPAGRO (Tabela 1), coincidindo com altos valores nos resultados do teste de germinação (Tabela 2), respectivamente, médias de 66% e 63%. Em 1998, ano em que os testes de germinação tiveram melhores resultados com média de 68%, apenas 65 amostras foram recebidas no laboratório e, em 1995, com 61 amostras recebidas foram observados os piores resultados, com média de 46%. Não houve relação entre quantidade de amostras recebidas e valores médios de germinação.

A diferença média entre estas duas determinações, teste de germinação e tetrazólio, é de 4% (Tabela 2). Este resultado indica que é viável tanto a utilização do teste de tetrazólio quanto o de germinação para avaliar a qualidade dos lotes de sementes de azevém. Considerando que as médias nos

dois testes foram aproximadas e, que o teste de tetrazólio é feito em apenas dois dias, enquanto o teste de germinação em sementes de azevém, segundo Brasil (1992), tem sua contagem final após 14 dias de instalação do teste, é preferível que, sob certas circunstâncias, seja utilizado o teste de tetrazólio para avaliar a qualidade das sementes. Segundo Freitas et al. (2003), a avaliação da germinação e da viabilidade expressa os importantes componentes do conjunto de atributos, que qualificam a semente para uso, mas o tempo para a obtenção dos resultados do teste de germinação é longo, variando com a espécie. Assim sendo, o teste de tetrazólio é uma ferramenta importante para estimar, em poucas horas, a viabilidade das sementes.

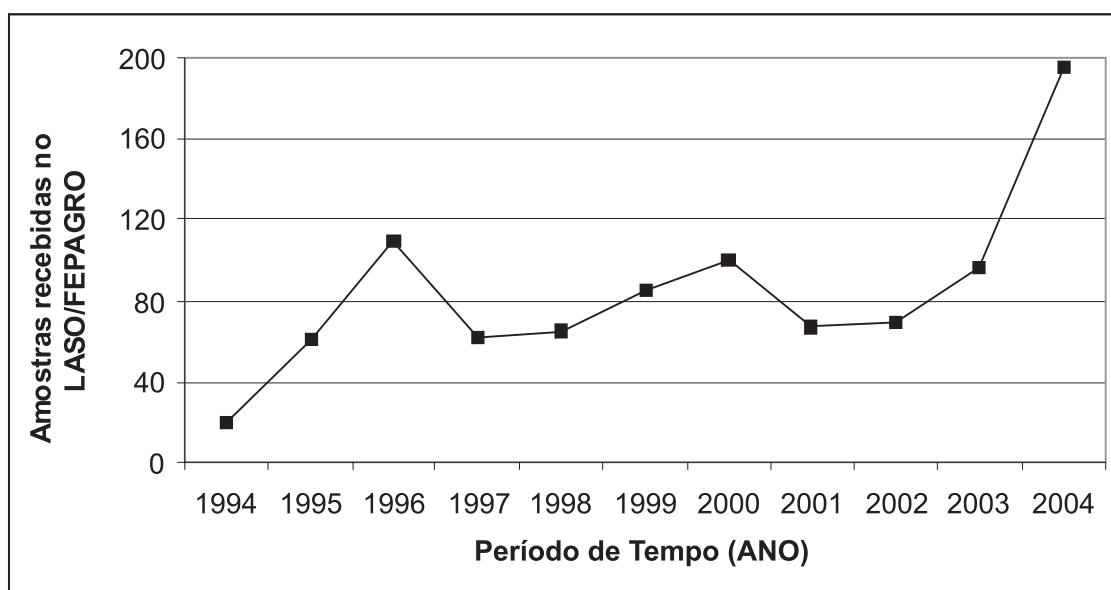
Observa-se na Figura 2 que as linhas dos testes de germinação e tetrazólio tem o mesmo comportamento e, até mesmo, as médias (46 %), sobrepuseram-se no ano de 1995. As diferenças maiores entre as médias foram observadas em 1994 e 2004. Mas no ano de 1994 foi realizado apenas um teste de tetrazólio, em um total de 20 análises realizadas e, por isso, não foi possível a aplicação do teste t e, em 2004 foram realizados cinco testes de tetrazólio, de um total de 199 análises realizadas. Ainda, os dados destes dois anos ocasionaram elevação no coeficiente de variação das médias, na diferença entre germinação e tetrazólio (Tabela 2).

Estudos têm sido realizados com o objetivo de estabelecer um protocolo para conduzir o teste de tetrazólio em várias espécies forrageiras. Simoni et al. (2003a, 2003b) desenvolveram estudo em sementes de *Paspalum atratum* (Capim Pojuca) e *Paspalum notatum* (Grama Batatais) e observaram que o teste de tetrazólio é eficiente para avaliar a qualidade fisiológica de ambas espécies, quando comparado ao teste de germinação.

**Tabela 2** - Médias das porcentagens dos testes de germinação e tetrazólio realizados em amostras de lotes de sementes azevém recebidas no LASO/FEPAGRO, no período de 1994 a 2004.

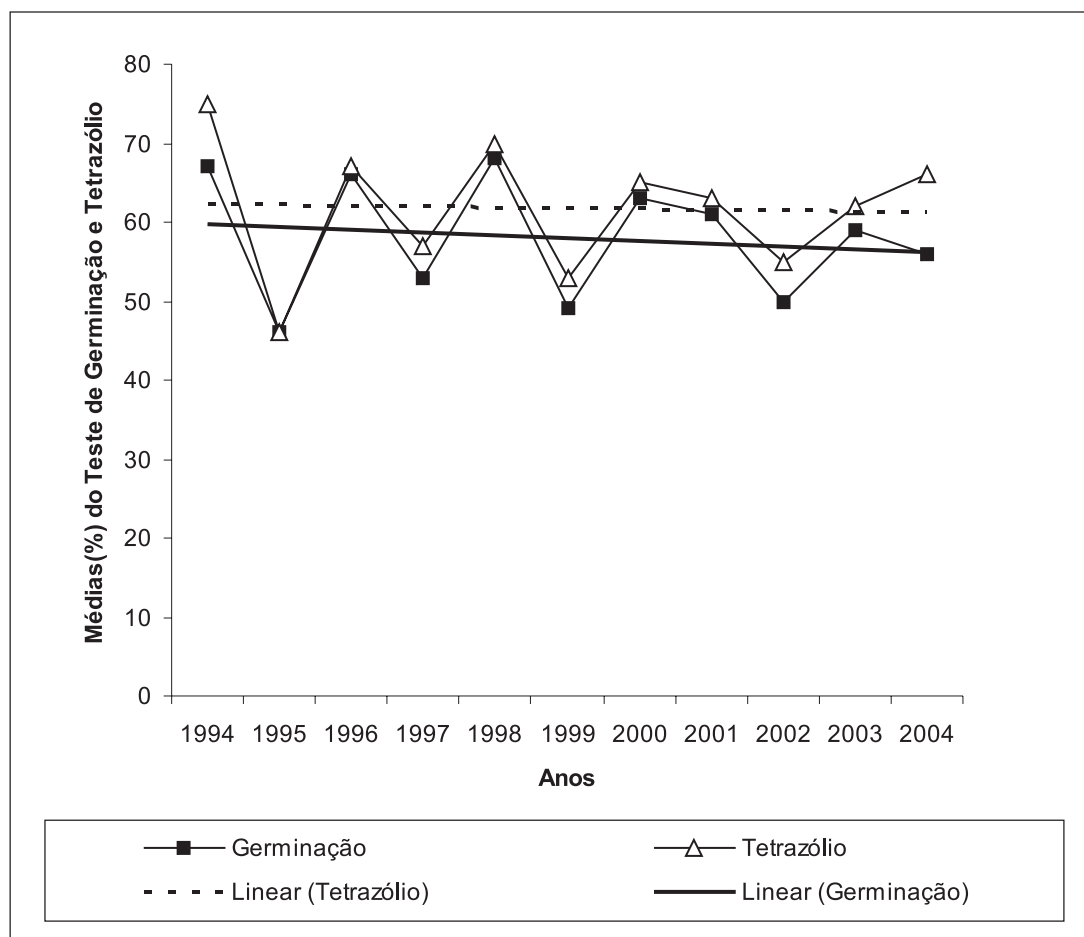
Ano	Nº	Germinação (%)	Tetrazólio (%)	Diferença entre G% e T%
1994(1)	01	67	75	8
1995	07	46	46 ns	0
1996	06	66	68 ns	2
1997	10	53	57 ns	4
1998	09	68	70 ns	2
1999	13	49	53 ns	4
2000	31	63	65 ns	2
2001	12	61	63 ns	2
2002	25	50	55 ns	5
2003	14	59	62 ns	3
2004	05	56	66 ns	10
Total	133	58	62 ns	4
CV(%)	94	17	24	73

ns = Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste t;  
 (1) = Somente uma amostra, não é possível aplicar o teste t.  
 LASO – Laboratório de Análise de Sementes Oficial  
 FEPAGRO – Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul



**Figura 1** - Quantidade de amostras de sementes de azevém recebidas no LASO/FEPAGRO no período de 1994 até 2004.

TESTE DE TETRAZÓLIO COMO ROTINA PARA AVALIAR GERMINAÇÃO EM SEMENTES DE AZEVÉM  
(*LOLIUM MULTIFLORUM* LAM.)



**Figura 2** - Comparação das médias obtidas nos testes de germinação e tetrazólio nas amostras de sementes de azevém, no período de 1994 a 2004, no LASO/FEPAGRO.

## Conclusões

- O teste de tetrazólio em sementes de azevém é um instrumento eficiente para avaliar a germinação das sementes com rapidez e segurança;

- O teste de tetrazólio em sementes de azevém pode ser usado como método alternativo ao teste de germinação em laboratórios de análise de sementes.

## Referências

AHRENS, D. C.; OLIVEIRA, J.C. Efeitos do Manejo do Azevém Anual (*Lolium multiflorum* lam.) na Produção de Sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília v. 19, n. 1, p. 41-47, 1997.

ALVES FILHO, C.D.; NEUMANN, M.; RESTLE, J.; SOUZA, A.N.M. de; PEIXOTO, L. A. O. Características Agronômicas Produtivas, Qualidade e Custo de Produção de Forragem em Pastagem de Azevém (*Lolium multiflorum* LAM) Fertilizada com Dois Tipos de Adubo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 1, jan./fev. 2003.

ARANHA, M.T.M.; HENNING, F. A.; CASA, R.T.; DUARTE, C. A. P. Doses de Nitrogênio Interferem na Produção de Semente de Azevém. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 13, n. 3, setembro, 2003.

BARNI, N. A. ET AL. Plantas Recicladoras de Nutrientes e de Proteção do Solo, para uso em Sistemas Equilibrados de Produção Agrícola. Porto Alegre: FEPAGRO, 2003. 84 p. Boletim FEPAGRO, 12.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 1992. 365 p.



MARIA ANGELICA MOREIRA SILVEIRA

CARÁMBULA, M. **Producción y Manejo de Pasturas Sembradas**. Montevideo: Hemisferio Sur, 1977. 464 p.

FONSÊCA, M.G.; MAIA, M.S.; LUCCA FILHO, O.; MORAES, D.M. Avaliação da Qualidade de Sementes de Azevém-Anual (*Lolium multiflorum* Lam.) no Rio Grande do Sul. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 7, n. 1/2, jul./ago. 1997.

FREITAS, D. A. C.; VALÉRIO, M. da G. B.; MAIA, M. de S. Determinação de Metodologia para Teste de Tetrazólio em Sementes de Capim Pojuca (*Paspalum atratum* cv. Pojuca). **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 13, n. 3, p. 469, set. 2003.

GRABE, DON F. **Manual do Teste de Tetrazólio em Sementes**: Contribuição n. 29 ao Manual de Análise de Sementes. Brasília: Ministério da Agricultura, 1976.

MENEZES, N. L. Testes Rápidos. **Seednews**, Pelotas, v. 5, n. 3, p. 30-32, maio/jun. 2001.

MÜHLBACH, P.R.F. Uso de Silagens na Produção Animal. In: CICLO DE PALESTRAS EM PRODUÇÃO E MANEJO DE BOVINOS DE CORTE 1998, Canoas. **Anais...** Canoas : ULBRA, 1998. p. 40-53.

ROSO, C. et al. Aveia Preta, Triticale e Centeio em Mistura com Azevém. 1. Dinâmica, Produção e Qualidade de Forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 75-84, 2000.

SIMONI, F. de; FOGAÇA, C. A.; GALLI, J.A.; RODRIGUES, T. de J.D. Avaliação da Viabilidade de Sementes de *Paspalum notatum* L. Gramineae através do Teste de Tetrazólio. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 13, n. 3, set., 2003a.

\_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_.; SANCHES, V.C.R.; RODRIGUES, T. de J.D. Avaliação da Viabilidade de Sementes de *Paspalum atratum* L. Gramineae pelo Teste de Tetrazólio. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 13, n. 3, set., 2003b.