

Evento: XXV Jornada de Pesquisa
ODS: 2 - Fome zero e agricultura sustentável

TESTE DO TETRAZÓLIO EM ACESSOS DE PASPALUM NOTATUM FLÜGGE COMO ALTERNATIVA NA VERIFICAÇÃO DA FERTILIDADE DE SEMENTES E DORMÊNCIA DOS EMBRIÕES ¹

TETRAZOLIUM TEST IN ACCESSIONS OF PASPALUM NOTATUM FLÜGGE AS AN ALTERNATIVE IN VERIFICATION OF SEED FERTILITY AND EMBRYO DORMANCE

Tadine Raquel Secco², Juliana Maria Fachinetto³

¹ Trabalho desenvolvido no Programa de Pós-Graduação em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade, Departamento de Estudos Agrários, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI

² Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade, Departamento de Estudos Agrários, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI, tadineraquel@hotmail.com

³ Docente do Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências da Vida e Docente do Programa de Pós-Graduação em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade, Departamento de Estudos Agrários, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI, juliana.fachinetto@unijui.edu.br

Resumo

Paspalum notatum Flügge é uma forrageira nativa de amplo interesse no setor agropecuário. Devido à crescente expansão das áreas cultivadas, a procura por sementes viáveis se tornou algo significativo. Assim, o objetivo do trabalho foi realizar a germinação de acessos de *P. notatum* e o Teste do Tetrazólio (TZ) para verificar a fertilidade das sementes que não germinaram. A alternativa da utilização do TZ é uma técnica muito prática e rápida obtendo resultados em menos de 24 horas. Deste modo, os acessos 66N, 67N e 87N foram submetidos os TZ onde apresentaram baixa fertilidade, sendo 8%, 0% e 7% respectivamente, e o acesso 92N apresentou sucesso durante germinação e desenvolvimento, e não foi necessária a realização do TZ. Assim, é possível perceber que a viabilidade de sementes influencia diretamente no desenvolvimento de qualquer cultura, pois a baixa fertilidade, identificada pelo TZ, impediu a germinação das sementes.

Abstract

Paspalum notatum Flügge is a native forage with wide interest in the agricultural sector. Due to the growing expansion of cultivated areas, the demand for viable seeds has become significant. Thus, the objective of the work was to perform the germination of *P. notatum* accessions and the Tetrazolium Test (TZ) to verify the fertility of the seeds that not germinated. The alternative of using TZ is a very practical and fast way, obtaining results in less than 24 hours. Thus, the 66N, 67N and 87N accessions were submitted to the TZs where they presented low fertility, 8%, 0% and 7% respectively, and the 92N accession was successful during germination and development, and it was not necessary to perform the TZ. Thus, it is possible to see that the viability of seeds had direct influences in the development of any crop, since the low fertility, identified by the TZ, prevented the germination of the seeds.

Palavras-chave: dormência, embriões, forragem, banco de germoplasma e sementes.

Keywords: dormancy, embryo, forage, germplasm bank and seeds.

Evento: XXV Jornada de Pesquisa

ODS: 2 - Fome zero e agricultura sustentável

TESTE DO TETRAZÓLIO EM ACESSOS DE *Paspalum notatum* FLÜGGE COMO ALTERNATIVA NA VERIFICAÇÃO DA FERTILIDADE DE SEMENTES E DORMÊNCIA DOS EMBRIÕES

Atualmente a atividade pecuária, visa a utilização de diversas forrageiras nativas na composição dos campos e pastagens do Sul. Espécies do gênero *Paspalum* L. são largamente reconhecidas nessa região e apresentam grande importância quando destinadas a produção de forragem e equilíbrio da biodiversidade (NABINGER, 2006; DENHAM, 2005).

Devido à crescente implementação destas atividades, *Paspalum notatum* Flügge, tão importante na questão econômica, possui boa produção de matéria seca e persistência às características ambientais (DALL'AGNOL *et al.*, 2006) e é uma forrageira nativa que apresenta grande interesse na composição e formação destas áreas.

Quanto ao potencial forrageiro, segundo Lopes e Franke (2011), não basta apenas quantidade e qualidade de forragem, mas sim a capacidade de produção de sementes viáveis. Entretanto, em espécies de *Paspalum* é frequente a informação da existência de sementes de baixa produtividade, dificultando a disseminação e comercialização desta forrageira tão importante (CARVALHO & CARVALHO, 2009).

Deste modo, muitos métodos alternativos com finalidade de verificar a sanidade, viabilidade, vigor e germinação de sementes vem sendo utilizados frequentemente, como exemplo, o Teste do Tetrazólio (TZ). Além de ser uma alternativa interessante e prática para determinação de viabilidade, o TZ também é rápido e eficaz, permitindo resultados em menos de 24 horas (FRANÇA-NETO & KRZYZANOWSKI, 2019).

Os bancos de germoplasmas (BG) são de grande importância neste sentido, tanto biológico como agrônomo, sendo encarregados de conservar toda biodiversidade vegetal de diversas culturas (BACCHETTA *et al.*, 2008). A presença de variabilidade genética influencia diretamente em programas de melhoramento, e são os bancos de germoplasmas que ampliam essa variabilidade existente, otimizando as novas populações, e consecutivamente, as novas sementes disponíveis (VIEIRA *et al.*, 2005).

Diante de vários eventos prejudiciais às sementes, como infestação de fungos, pragas e entre outros, a conservação das mesmas se tornou algo muito importante nas últimas décadas. Esse fato foi evidenciado pelos diversos programas que permitiram a conservação dos recursos genéticos vegetais,

Evento: XXV Jornada de Pesquisa

ODS: 2 - Fome zero e agricultura sustentável

visto que as sementes são bases principais para uma agricultura sustentável, assim como a manutenção das mesmas.

Deste modo, o objetivo do trabalho é realizar o teste do tetrazólio em acessos de *P. notatum* provenientes de um banco de germoplasma para verificar a viabilidade dos embriões.

METODOLOGIA

O experimento foi realizado na Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ), onde foram colocadas para germinar em casa de vegetação, as sementes de quatro acessos de *P. notatum* provenientes do Banco de Germoplasma do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (United States Department Of Agriculture - USDA) juntamente com uma testemunha, *P. notatum* var. *saurae* (Pensacola), cujas sementes foram doadas pelo Comércio e Representações Agrícolas RELVA LTDA localizado em Ijuí (Brasil). Os acessos de *P. notatum* são identificados de acordo com o registro do U. S. National Plant Germplasm System, sendo PI508832 (66N), PI337573 (67N), PI404863 (87N) e PI508831 (92N). As identificações entre parênteses referem-se aquelas utilizadas durante estudo realizado por Fachinetto *et al.*, (2012).

As sementes foram acondicionadas em bandejas de isopor com o uso de substrato comercial, sendo verificado diariamente a necessidade de água e observado devido desenvolvimento. Diante do insucesso de germinação, sementes de três acessos foram encaminhadas até o Laboratório de Análise de Sementes da UNIJUÍ, para realização do TZ, com finalidade de verificar a fertilidade e dormência dos embriões.

O laboratório utiliza a metodologia referente ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2009), a qual segue descrita abaixo.

Utilizou-se cerca de 15 sementes de cada acesso e então foram acondicionadas em caixas Gerbox e com o substrato de papel mata-borrão. Ao término deste preparo, as caixas Gerbox foram colocadas em pré-umedecimento do tipo EP (Entre-Papel) durante 18 horas a 25°C. Após o término do período de incubação, foi realizado um corte longitudinal através da metade distal do endosperma e separadas as partes. As sementes foram submersas em solução Cloreto 2,3,5-Trifenil Tetrazólio 1%. O tempo exposto das sementes na coloração foi entre 6 a 24 horas a 30°C. Após, as sementes foram lavadas e distribuídas novamente em papel mata-borrão, umedecido com água destilada. Para a realização da avaliação, observou-se a exposição do embrião com o auxílio de um microscópio estereoscópico no mesmo laboratório. Esse processo tem finalidade de verificar a dormência dos embriões. Após isso,

Evento: XXV Jornada de Pesquisa
ODS: 2 - Fome zero e agricultura sustentável

obteve-se laudos provenientes das análises realizadas de cada acesso.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O TZ foi realizado para três acessos do banco de germoplasma, os acessos 66N, 67N e 87N. As sementes dos referidos acessos não apresentaram germinação em casa de vegetação. Já para o acesso 92N e para a cultivar Pensacola, obteve-se germinação e desenvolvimento satisfatório na casa de vegetação, o qual não foi necessário a realização do TZ. Através dos laudos conclusivos oriundos da análise de sementes realizada no laboratório da UNIJUÍ, determinou-se que o acessos 66N, 67N e 87N obtiveram respectivamente 8%, 0% e 7% de fertilidade dos embriões (TABELA 1; FIGURA 1).

Os resultados mostram que, considerando-se as condições adequadas existentes na casa de vegetação da UNIJUÍ, como temperatura e água, não seria possível a germinação dos acessos devido as sementes estarem com os embriões sem viabilidade, ou seja, embriões totalmente mortos.

A funcionalidade do TZ se dá através da imersão das sementes em uma solução de tetrazólio. Esta solução difunde-se pelos tecidos nas células vivas, reagindo na formação de um composto vermelho, o qual indica a atividade respiratória das mitocôndrias apresentando um tecido viável, ou seja, vivo. Quando os tecidos são inviáveis, a solução não reage, conservando-se a cor natural (LAZAROTTO, PIVETA & MUNIZ, 2011).

TABELA 1. Descrição dos acessos: registro, local de origem, ano de coleta, fertilidade e germinação de acessos de *P. notatum* e *P. notatum* var. *saurae* submetidos a casa de vegetação e Teste do Tetrazólio.

ACESSOS/REGISTRO	LOCAL	ANO DE COLETA	VIABILIDADE (%)
<i>P. notatum</i> 66N (PI508832)	Santa Fé, Argentina	1979	8%
<i>P. notatum</i> 67N (PI337573)	Santa Fé, Argentina	1968	0%
<i>P. notatum</i> 87N (PI404863)	Paysandu, Uruguai	1975	7%
<i>P. notatum</i> 92N (PI508831)	Santa Fé, Argentina	1979	Não avaliado

Evento: XXV Jornada de Pesquisa
ODS: 2 - Fome zero e agricultura sustentável

P. notatum var. *saurae* (Pensacola)

Doação RELVA
LTDA

-

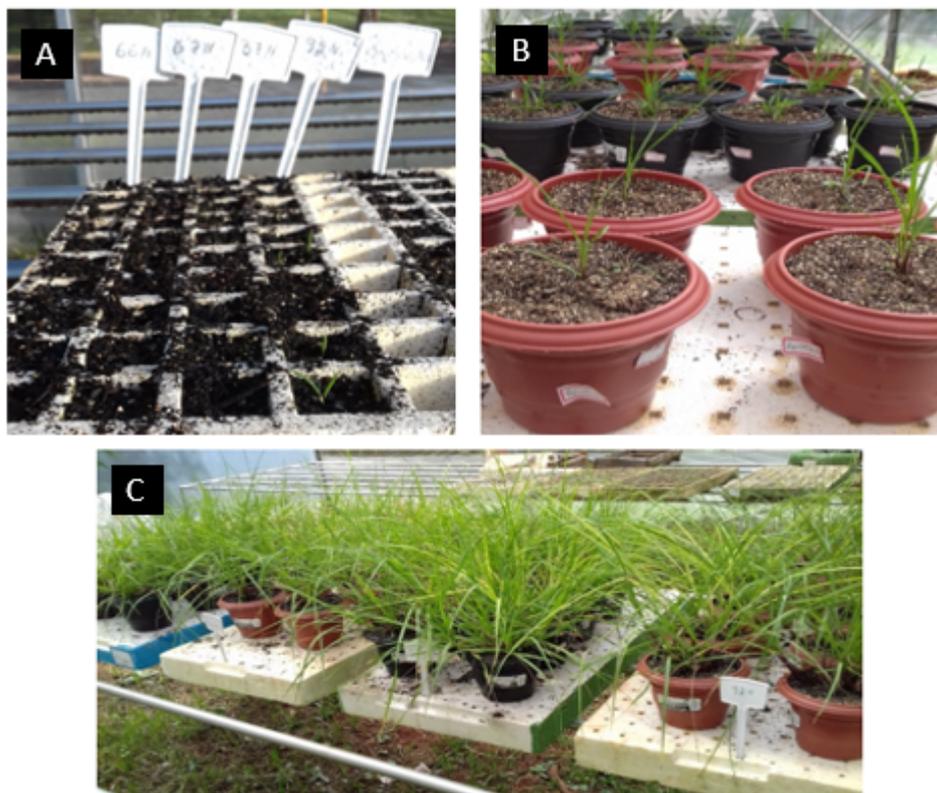
Não avaliado

Fonte: Dados da pesquisa

Diante da observação das respectivas datas de coleta dos acessos de *P. notatum*, há grande possibilidade de que a germinação possa não ter ocorrido devido ao ano de coleta e processos prejudiciais às sementes, como armazenamento entre outros. Entretanto, o acesso 92N superou as expectativas, e comparado com a cultivar Pensacola, desenvolveu-se progressivamente, garantindo boa qualidade e persistência. Segundo Moterle *et al.*, (2011) a qualidade de sementes, se baseia em requisitos genéticos, bem como, físicos, sanitários, e fisiológicos, o que conseqüentemente afetou nestes acessos não viáveis.

É importante relatar que as sementes estavam armazenadas em um banco de germoplasma muito conceituado em termos de biodiversidade, onde a representação da variabilidade genética é considerada uma ferramenta concreta em termos de restauração ecológica (PÉREZ, 2004). Além disso, os BG possuem amostras mantidas em ambientes com condições adequadas, representando vital importância na conservação da variabilidade (MONTEROS-ALTAMIRANO, 2018). Em contra partida, as transições de ambiente podem ter influenciado diretamente na vitalidade dos acessos. Fatores como água, armazenamento, mecanismos de dormência e maturidade fisiológica, assim como a longevidade das sementes, são características determinantes em termos de variabilidade genética (COSTA, 2009).

Evento: XXV Jornada de Pesquisa
ODS: 2 - Fome zero e agricultura sustentável



Legenda: FIGURA 1: Germinação e desenvolvimento de *P. notatum* e cv. Pensacola. Imagem A: germinação *P. notatum* 92N. B e C: Desenvolvimento 92N e cv. Pensacola.

Em um estudo com quatro ecótipos de *Paspalum*, a produção de sementes foi prejudicada em relação ao período de inflorescência e capacidade de retenção de sementes nas inflorescências, logo a produção se diferiu entre os ecótipos, produzindo 47,17 kg/ha (*P. notatum* André da Rocha), 61,01 kg/ha (*P. notatum* Bagual), 30,60 kg/ha (*P. notatum urvillei* André da Rocha) e 47,95 kg/ha (*P. notatum* Eldorado do Sul) (LOPES & FRANKE, 2011).

Mesmo sendo uma estratégia, a dormência de sementes pode ser considerada uma característica negativa. Além disso, a produção de sementes é altamente influenciada pelo número de perfilhos férteis (LOPES; FRANKE, 2011). Segundo Popinigis (1977), a causa de dormência em *P. notatum* é resultado da rigidez mecânica imposta através de sua cariopse, o que impede o crescimento do embrião.

Os acessos avaliados neste estudo são de extrema importância para a inserção dos mesmos em programas de melhoramento genético. Fachinetto *et al.*, (2012) comparou os mesmos materiais de *P. notatum* com a cv. Pensacola, e verificou que os acessos produziram cerca de quatro a sete vezes

Evento: XXV Jornada de Pesquisa

ODS: 2 - Fome zero e agricultura sustentável

mais em material forrageiro, além de persistirem às condições climáticas existentes. Além disso, a grande variabilidade genética e morfológica destes acessos de *P. notatum* (FACHINETTO *et al.*, 2017) reforça o interesse.

O gênero apresenta uma questão importante relacionada ao modo reprodutivo, onde a diploidia está correlacionada com a reprodução sexual, enquanto a poliploidia está associada à apomixia (ADAMOWSKI *et al.*, 2005). Fachinnetto *et al.*, (2018) identificou os acessos 66N, 67N, 87N e 92N como diploides. Isso agrega conhecimento quanto a oferta de material disponível para serem utilizados na realização de cruzamentos, já que a única espécie diploide disponível é a cultivar Pensacola, pertencente a *Paspalum notatum* var. *saurae* Parodi.

Essa problemática é estudada e questionada por diversos pesquisadores, e gera grandes possibilidades de inserções em programas de melhoramento genético de plantas relacionadas ao gênero *Paspalum*, sendo como objetivo principal, a produção de novos materiais superiores aos já existentes disponíveis.

Deste modo, a germinação dos acessos é de extrema importância para verificação do modo reprodutivo e posterior, a realização de cruzamentos com materiais superiores de grande interesse, logo, a inserção dos acessos em programas de melhoramento genético.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos demonstram que dormência e fertilidade dos embriões, influenciam diretamente no processo de germinação e desenvolvimento de acessos de *P. notatum*. Portanto, o resultado do TZ é um método rápido e prático, caracterizando que os respectivos acessos 66N, 67N e 87N não apresentam sementes viáveis, somente o acesso 92N. A dormência das sementes pode ser um fator limitante para a manutenção de genótipos em bancos de germoplasma.

REFERÊNCIAS

ADAMOWSKI, E. V. *et al.* **Chromosome numbers and meiotic behavior of some *Paspalum* accessions.** Genetics and Molecular Biology, v. 28, p. 773-780, 2005.

BACCHETTA, G. *et al.* **Conservación ex situ de plantas silvestres.** Jardín Botánico Atlántico, Principado de Asturia & La Caixa, 2008.

CARVALHO, R. I. N.; CARVALHO, D. B. **Germinação de sementes de um ecótipo de *Paspalum***

Evento: XXV Jornada de Pesquisa

ODS: 2 - Fome zero e agricultura sustentável

da região de Guarapuava – PR. Seminário: Ciências Agrárias, Londrina, v. 30, supl.1, p. 1187-1194, 2009.

COSTA, C. J. **Armazenamento e conservação de sementes de espécies do Cerrado.** Documentos Embrapa Cerrados, 30p, 2009.

DALL'AGNOL, M. *et al.* Perspectivas de lançamento de cultivares de espécies forrageiras nativas; o gênero *Paspalum*. In: Simpósio de Forrageiras e Produção Animal. Ênfase, importância e Potencial Produtivo da Pastagem nativa, 1º, **Anais...** Porto Alegre: Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia UFRGS 147-160, 2006.

DENHAM, S. S. **Revisión sistemática del subgénero Harpostachys de *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae).** Annals of the Missouri Botanical Garden, Saint Louis, v. 92, p. 463-532, 2005.

FACHINETTO, J. M. *et al.* **Avaliação agrônômica e análise da persistência em uma coleção de acessos de *Paspalum notatum* Flüggé (Poaceae).** Revista Brasileira de Ciências Agrárias v. 7, p. 189-195, 2012.

FACHINETTO, J. M. *et al.* **Genetic diversity of a *Paspalum notatum* Flüggé germplasm collection.** Revista Brasileira de Zootecnia, v. 46, p. 714-721, 2017.

FACHINETTO, J. M. *et al.* **New wild diploids in *Paspalum notatum* Flüggé (Poaceae): potential accessions for use in breeding.** Crop Breeding and Applied Biotechnology, v. 18, p. 432-436, 2018.

FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Tetrazolium: an important test for physiological seed quality evaluation.** Journal of Seed Science, v. 41, p. 359-366, 2019.

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.

LOPES, R. R.; FRANKE, L. B. **Produção de sementes de quatro ecótipos de *Paspalum* nativos do Rio Grande do Sul.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 40, n. 1, p. 20–30, 2011.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Manual de Análise Sanitária de Sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 200p, 2009.

Evento: XXV Jornada de Pesquisa

ODS: 2 - Fome zero e agricultura sustentável

MONTEROS-ALTAMIRANO, A. *et al.* **Guía para el manejo de los recursos fitogenéticos en Ecuador.** Protocolos. Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos, 2018.

MOTERLE, L. M. *et al.* **Combining ability of tropical maize lines for seed quality and agronomic traits.** Genetics and Molecular Research, v. 10, p. 2268-2278, 2011.

NABINGER, C. Manejo do campo nativo na região sul do Brasil e viabilidade do uso de modelos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM PRODUÇÃO ANIMAL, 2. 2006, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 2006. p. 1-44.

PÉREZ, M. **Caracterización morfológica y bioquímica para la sistematización del banco de germoplasma del genero canavalia.** Trabajo especial de grado, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela, 2004.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente.** Brasília: Vem Cruz, p. 289, 1977.

VIEIRA, E. A. *et al.* **Variabilidade genética para caracteres morfológicos entre acessos do Banco de Germoplasma de mandioca da Embrapa Cerrados.** XI Congresso Brasileiro de Mandioca, 2005.

Parecer CEUA: 3.464.553