

TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert – LEGUMINOSAE CAESALPINIOIDEAE

Luciana Magda de Oliveira¹, Maria Laene Moreira de Carvalho², Antonio Claudio Davide³

(recebido: 19 de novembro de 2004; aceito: 10 de maio de 2005)

RESUMO: Este trabalho teve por objetivo verificar a eficiência de métodos de pré-condicionamento e concentrações da solução de tetrazólio na avaliação da qualidade de lotes de sementes de canafístula. Sementes colhidas nos municípios de Lavras (MG) e Lins (SP) foram submetidas aos métodos de pré-condicionamento: a) escarificação manual e imersão em água por 14 horas a 25°C, e b) imersão em água a temperatura de 95°C com manutenção das sementes na mesma água por 24 horas a 25°C. Após o pré-condicionamento, os tegumentos das sementes foram retirados e os embriões imersos em soluções de tetrazólio a 0,07; 0,1 e 0,3% por 150 minutos a 25°C. Para comparação dos resultados obtidos no teste de tetrazólio, foram realizados os testes de germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação e emergência em viveiro. O método utilizando escarificação manual e posterior embebição em água por 14 horas a 25°C apresentou eficiência no pré-condicionamento de sementes de canafístula e a concentração 0,1% da solução de tetrazólio por 150 minutos a 25°C permite avaliar a qualidade de lotes de sementes dessa espécie.

Palavras-chave: canafístula, viabilidade de sementes.

TETRAZOLIUM TEST FOR EVALUATING *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert – LEGUMINOSAE CAESALPINIOIDEAE SEEDS QUALITY

ABSTRACT: This research verified different methods of pre-conditioning and concentrations of tetrazolium solutions for evaluating of canafistula seed lot quality. Seeds collected in Lavras-MG- were submitted to the following methods of pre-conditioning: a) scarification and immersion in water of 25°C for 14 hours; and b) immersion in water of 95°C and left in the same water to rest without heating for 24 hours at 25°C. The teguments of the seeds were removed and the embryos were immersed in 0.07, 0.1 and 0.3% tetrazolium solution during 150 minutes at 25°C. To verify the reliability of the results through the tetrazolium test, germination test, first counting, index of germination velocity and nursery emergency were done. Scarification and immersion in water of 25°C for 14 hours were efficient in pre-conditioning canafistula seeds and 0,1% tetrazolium solution for 150 minutes at 25°C allowed evaluating seed lots of this species.

Key words: canafistula, seed viability.

1 INTRODUÇÃO

A pesquisa em tecnologia de sementes tem atuado, em caráter permanente, no sentido de desenvolver e/ou aprimorar testes que possibilitem a avaliação da qualidade das sementes, principalmente das espécies que requerem um longo período para completar o teste de germinação (MARCOS FILHO, 1994; MCDONALD, 1998). Um destes métodos que vem sendo utilizado é o teste de tetrazólio (VIEIRA & CARVALHO, 1994).

O teste de tetrazólio reflete a atividade das enzimas desidrogenases, envolvidas no processo de respiração. Pela hidrogenação do 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio é produzida nas células vivas uma substância vermelha, estável e não difusível, o trifenil

formazan. Isto torna possível distinguir as partes vivas, coloridas de vermelho, daquelas mortas que mantêm a sua cor. Este teste tem sido aceito, segundo Deswal & Chand (1997), não somente como uma técnica para estimar a viabilidade, mas também o vigor das sementes.

Na realização do teste de tetrazólio são indicados procedimentos, chamados de pré-condicionamento, que visam a penetração da solução nos tecidos de interesse a serem avaliados. Em sementes de espécies florestais diversos tratamentos de pré-condicionamento vêm sendo utilizados como corte, escarificação e embebição em água (DAVIDE et al., 1995; FERREIRA et al., 2001; MALAVASI et al., 1996; MENDONÇA et al., 2001; OLIVEIRA, 2004; SANTOS et al., 1998).

¹ Pós-doutoranda do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – lumagda@ufla.br

² Professora do Departamento de Agricultura/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – mlaenemc@ufla.br

³ Professor do Departamento de Ciências Florestais/ UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG.

Além do pré-condicionamento, a utilização de concentração da solução de tetrazólio, tempo e temperatura de condicionamento e avaliação adequada da coloração das sementes, são fundamentais para que se obtenham resultados confiáveis sobre a qualidade. De acordo com Todd-Bockarie et al. (1993), embriões de *Cassia sieberiana* podem ser submetidos a 1% da solução de tetrazólio por 9 horas a 35°C na realização do teste. Para *Tabebuia serratifolia* é indicada a concentração da solução de 0,5% de tetrazólio por 12 horas a 30°C (OLIVEIRA, 2004).

A metodologia para a realização do teste de tetrazólio em sementes de canafístula ainda não foi estabelecida; assim, com este trabalho objetivou-se verificar a eficiência de diferentes métodos de pré-condicionamento e concentrações da solução de tetrazólio na avaliação da qualidade de lotes de sementes de canafístula.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de canafístula foram colhidos manualmente, nos municípios de Lavras, MG, nos anos de 1986 (Lavras 86) e 1998 (Lavras 98) e Lins, SP no ano de 1998 (Lins 98). Após a colheita, os frutos foram secos ao sol, colocados em saco de aniagem onde, com o auxílio de um martelo de borracha foi efetuada a extração das sementes. Os lotes foram beneficiados retirando sementes visualmente danificadas, chochas e fragmentos de sementes; armazenados em sacos de polietileno e mantidos até o momento de sua utilização, em câmara com controle de temperatura e umidade (6-9°C; 70%UR). O lote Lavras 86 foi armazenado por 12 anos, e os lotes Lavras 98 e Lins 98 por três meses.

2.1 Teor de água

Retiradas da câmara de armazenamento, as sementes foram mantidas por 24 horas em condições ambientais e tiveram seu teor de água determinado pelo método de estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ por 17 horas (BRASIL, 1992), com quatro repetições de quatro

gramas por repetição. As sementes foram quebradas dentro de um saco plástico fechado, com o auxílio de um alicate e colocadas em recipientes de alumínio com peso pré-determinado, pesadas e colocadas em estufa. Os resultados da determinação dos teores de água foram calculados com base no peso das sementes úmidas (base úmida).

2.2 Teste de tetrazólio

Foram testadas duas metodologias para o pré-condicionamento das sementes de canafístula: a) escarificação manual: as sementes foram lixadas na região oposta ao eixo embrionário até pequena exposição dos cotilédones com posterior imersão em água por 14 horas, a 25°C; e b) água quente: as sementes foram imersas em água a temperatura de 95°C e deixadas em repouso na mesma água, fora do aquecimento, por 24 horas, a 25°C.

Decorrido estes períodos, os tegumentos das sementes foram cuidadosamente retirados e os embriões colocados em copos plásticos, sendo totalmente submersos em solução de tetrazólio (pH 6,5) nas concentrações de 0,07%, 0,1% e 0,3% e mantidos no escuro à temperatura de 25°C, por 2:30 horas. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento.

Após o desenvolvimento da coloração, os embriões foram lavados em água corrente e deixados submersos em água até o momento da avaliação. Os embriões submetidos ao teste de tetrazólio foram cortados no sentido longitudinal, abrangendo os cotilédones e o eixo embrionário. As duas metades foram individualmente examinadas e, de acordo com a extensão, intensidade dos tons avermelhados, presença de áreas brancas leitosas, aspecto dos tecidos e localização destas colorações em relação às áreas essenciais ao crescimento, os embriões foram individualmente colocados em categorias de viáveis e inviáveis (Figura 1), de acordo com padrões publicados por Grabe (1976), ISTA (1993) e Moore (1972), para diversas espécies agrícolas e florestais.

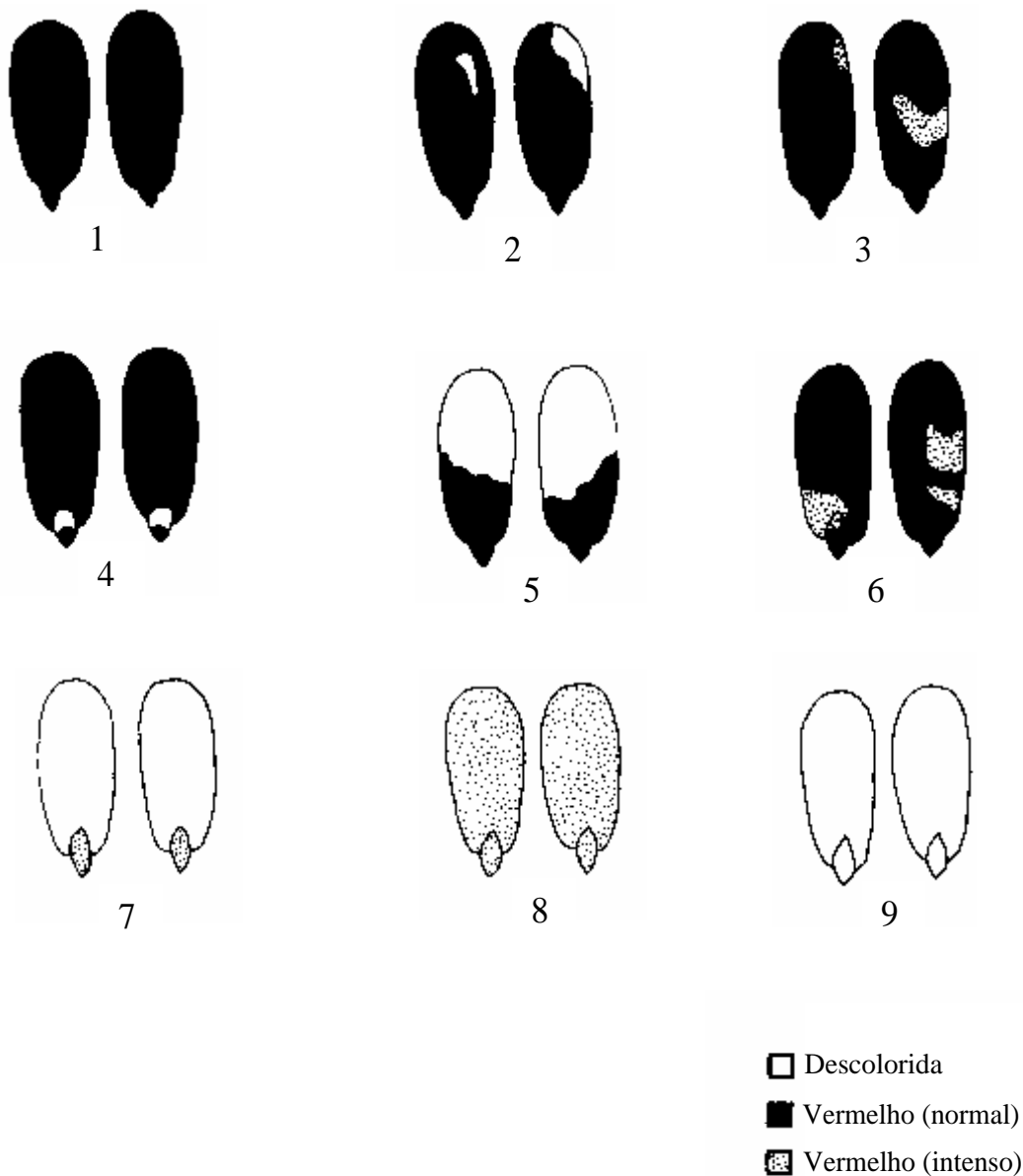


Figura 1 – Categorias de sementes de *Peltophorum dubium* submetidas ao teste de tetrazólio.

Figure 1 – Categories of *Peltophorum dubium* seeds submitted to tetrazolium test.

Categoria 1 (viável): embrião com coloração rosa e tecidos com aspecto normal e firme.

Categorias 2 e 3 (viáveis): menos de 50% dos cotilédones descoloridos ou com coloração vermelho-intenso, não afetando a região de ligação com o eixo-embrionário. Demais regiões com coloração rosa ou mais escura e tecidos firmes.

Categoria 4 (inviável): eixo-embrionário com regiões descoloridas, afetando o cilindro central.

Categoria 5 (inviável): mais de 50% dos cotilédones descoloridos ou com coloração vermelho-intenso.

Categoria 6 (inviável): região dos cotilédones com coloração vermelho-intenso ou descolorida, afetando o eixo-embrionário.

Categoria 7 (inviável): cotilédones descoloridos e eixo embrionário com coloração vermelho-intenso.

Categoria 8 (inviável): embrião com coloração vermelho-intenso e tecidos flácidos, indicando processo de deterioração.

Categoria 9 (inviável): embrião completamente descolorido, com os tecidos flácidos.

Para comparação dos resultados obtidos no teste de tetrazólio, foram realizados os testes de germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação e emergência em viveiro.

2.3 Teste de germinação

O teste de germinação foi realizado, de acordo com Oliveira (2000), em câmara de germinação a 30°C, sob luz branca constante. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada lote. Para a superação da dormência causada pela impermeabilidade do tegumento, as sementes foram imersas em água quente (95°C) e deixadas em repouso na mesma água, fora do aquecimento, a 25°C por 24 horas, antes da montagem do teste. As sementes foram desinfestadas em solução de benomyl a 0,02% por 1 minuto, e a seguir lavadas em água destilada e colocadas para germinar em rolo de papel autoclavado (120°C / 20 minutos) e umedecidos com água na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. A avaliação do teste de germinação (plântulas normais) foi realizada diariamente a partir do 4º dia até o 10º dia após a montagem do teste. A classificação das plântulas como normais ou anormais foi feita seguindo a descrição proposta por Alcalay & Amaral (1981),

considerando normais, as plântulas com todas as estruturas essenciais em perfeito desenvolvimento.

2.4 Primeira contagem e Índice de velocidade de germinação

Os testes de primeira contagem e índice de velocidade de germinação (IVG) foram realizados juntamente com o teste de germinação. O índice de velocidade de germinação foi calculado segundo Maguire (1962) e os valores da primeira contagem obtidos no 4º dia após a montagem do teste de germinação.

2.5 Emergência em viveiro

Para a realização do teste de emergência em viveiro, foi seguida a mesma metodologia de quebra da dormência descrita para o teste de germinação. A semeadura foi conduzida em canteiros contendo terra e areia na proporção 3:1, com irrigação diária. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada lote. As avaliações foram feitas diariamente, até o 20º dia após a semeadura, considerando normais as plântulas que apresentavam a parte aérea em perfeito desenvolvimento.

Os dados obtidos nos testes de tetrazólio, germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação e emergência foram transformados em $\arcsen \sqrt{x/100}$ e submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, usando o programa SANEST (ZONTA et al., 1985).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes que constituíram os lotes de canafístula apresentavam teor de água em torno de 10% por ocasião da realização dos testes de tetrazólio, germinação e emergência.

Nas sementes submetidas ao método de pré-condicionamento com água quente foram observadas manchas mais escuras nos cotilédones dos embriões de todos os lotes após a imersão na solução de tetrazólio, o que dificultou a interpretação do teste. A ocorrência de manchas pode ser devida à rápida absorção de água, que métodos como água quente, podem provocar; pois, segundo Copeland et al. (1959), o pré-condicionamento antes da coloração constitui uma das etapas críticas do teste, sendo que a absorção

lenta de água, em temperatura controlada, é extremamente desejável e necessária para prevenir fraturas de partes do embrião e estimular a atividade enzimática, que é um dos pré-requisitos do processo respiratório.

Quanto ao tratamento escarificação manual, no momento da interpretação do teste, foi observado que a região escarificada dos embriões dos três lotes estava descolorida ou com coloração vermelho-intenso devido a danos causados pela lixa; contudo, estes danos afetaram pequena parte da região superior dos cotilédones, não prejudicando, desta forma, a interpretação dos resultados. Esse método foi utilizado no pré-condicionamento de outras espécies florestais, como *Platycyamus regnellii* (DAVIDE et al., 1995) e *Dipteryx alata* (MALAVASI et al., 1996).

Não houve diferença significativa entre os testes de germinação e tetrazólio para os lotes Lavras 86 e Lins 98, exceto para a concentração 0,3% no lote Lins 98. Para o lote Lavras 98, a germinação das sementes foi superestimada pelo teste de tetrazólio (Tabela 1), devido, provavelmente, a microrganismos presentes no lote (dados não mostrados) e ao fato do teste de tetrazólio não detectar a presença de patógenos, que podem causar

um declínio no teste de germinação (SENEEWONG et al., 1991).

O teste de tetrazólio, tanto a 0,07 como a 0,1%, possibilitou diferenciar os lotes Lins 98 e Lavras 86, como o de melhor e pior qualidade, respectivamente, correspondendo aos resultados obtidos pelos demais testes, exceto para a primeira contagem do teste de germinação (Tabela 2). Para o lote Lavras 98, os resultados do teste de tetrazólio superestimaram os resultados obtidos nos demais testes. Segundo Marcos Filho (1994), dentre os critérios para avaliar a confiabilidade de um determinado teste para avaliação da qualidade de diferentes lotes, a correlação dos resultados desse teste com os resultados de emergência em campo é um dos parâmetros mais adotados. Por outro lado, deve-se ter em mente que a emergência em campo e os testes diretos de avaliação da qualidade das sementes são afetados por fatores muitas vezes não observados durante a condução de testes indiretos, como o tetrazólio, de modo que os resultados precisam ser interpretados com a devida cautela. Como citado anteriormente, foi detectada a presença de microrganismos no lote Lavras 98, o que pode ter causado a baixa germinação e emergência do lote.

Tabela 1 – Resultados dos testes de tetrazólio e germinação em sementes de *Peltophorum dubium* (TZ0,07 = 0,07% da solução de tetrazólio, TZ0,1 = 0,1% da solução de tetrazólio, TZ0,3 = 0,3% da solução de tetrazólio e TG = teste de germinação).

Table 1 – Results of tetrazolium test and germination test in *Peltophorum dubium* seeds. (TZ0,07 = 0,07% tetrazolium solution, TZ0,1 = 0,1% tetrazolium solution, TZ0,3 = 0,3% tetrazolium solution and TG = germination test).

| TESTES | LOTES | | |
|---------|---------|-----------|-----------|
| | LINS 98 | LAVRAS 98 | LAVRAS 86 |
| TZ 0,07 | 98 A | 98 A | 70 A |
| TZ 0,1 | 99 A | 98 A | 74 A |
| TZ 0,3 | 85 B | 100 A | 75 A |
| TG | 97 A | 73 B | 64 A |

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 2 – Resultados dos testes de tetrazólio (TZ0,07 = solução de 0,07%, TZ0,1 = solução de 0,1% e TZ0,3 = solução de 0,3%), germinação (TG), emergência em viveiro (TE); primeira contagem do teste de germinação (PC) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de *Peltophorum dubium*.

Table 2 – Results of tetrazolium test (TZ0,07 = 0,07% solution, TZ0,1 = 0,1% solution and TZ0,3 = 0,3% solution), germination test (TG), emergency (TE), first count (PC) and speed germination (IVG) in *Peltophorum dubium* seeds.

| TESTES | LOTES | | |
|---------|---------|-----------|-----------|
| | LINS 98 | LAVRAS 98 | LAVRAS 86 |
| TZ 0,07 | 98 A | 98 A | 70 B |
| TZ 0,1 | 99 A | 98 A | 74 B |
| TZ 0,3 | 85 B | 100 A | 75 C |
| TG | 97 A | 73 B | 64 B |
| TE | 78 A | 52 B | 47 B |
| PC | 47 A | 22 B | 43 A |
| IVG | 6.46 A | 3.40 B | 3.33 B |

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Quanto à coloração obtida nos embriões das sementes nas diferentes concentrações estudadas, para os embriões dos lotes Lavras 98 e Lins 98, obteve-se uma coloração rósea nos tecidos vigorosos quando foi utilizada a concentração de 0,07% da solução de tetrazólio; enquanto que, para os embriões das sementes do lote Lavras 86 foi observada uma coloração amarelada. Os tecidos vivos dos embriões do lote Lavras 98 coloriram-se intensamente quando imersos na concentração de 0,3%, o que não foi observado para os embriões dos demais lotes. Isto comprova que a utilização de lotes de diferentes qualidades fisiológica, para o estudo da metodologia de um teste, é de fundamental importância devido às diferentes respostas encontradas em cada lote para um mesmo tratamento. Desta forma, a concentração de 0,1% da solução de tetrazólio permitiu uma coloração mais nítida dos embriões quando comparada às demais concentrações, o que facilitou a análise visual da viabilidade.

Segundo Krzyzanowski et al. (1999), a escolha de metodologia adequada para o emprego do teste de tetrazólio deve se basear na facilidade para a diferenciação de tecidos viáveis e inviáveis e na capacidade de diferenciar lotes de qualidade fisiológica distintas. Desta maneira, o teste de tetrazólio utilizando a concentração de 0,1% pode ser

usado como um complemento ao teste de germinação em sementes de canafístula.

A concentração de 0,1% foi utilizada para várias espécies florestais, porém com diferentes tempos e temperaturas de incubação, como sementes de *Dipteryx alata* (MALAVASI et al., 1996), *Kielmeyera coriacea* (DAVIDE et al., 1997) e *Platycyamus regnellii* (DAVIDE et al., 1995) que permaneceram na solução de tetrazólio a 35°C por 5 horas, 10 horas e 150 minutos, respectivamente.

4 CONCLUSÕES

O método utilizando escarificação manual e posterior embebição em água por 14 horas a 25°C apresenta eficiência no pré-condicionamento de sementes de canafístula.

A concentração 0,1% da solução de tetrazólio por 150 minutos a 25°C permite avaliar a qualidade de lotes de sementes dessa espécie.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCALAY, N.; AMARAL, D. M. I. Descrição de plântulas de algumas essências florestais de interesse econômico para o Rio Grande do Sul. **Roessléria**, Porto Alegre, v. 4, n. 1, p. 85-100, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

COPELAND, T. G.; BRUCE, C. F.; MIDYETT JUNIOR, Y. W. The unofficial application of tetrazolium tests as an aid in checking germination cains. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Oklahoma, v. 49, p. 134-141, 1959.

DAVIDE, A. C.; BOTELHO, S. A.; MALAVASI, M. M.; OLIVEIRA, L. M. Avaliação da viabilidade de sementes de pau-pereira (*Platycyamus regnellii*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 5., 1995, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: ABRATES, 1995. p. 178.

DAVIDE, A. C.; MALAVASI, M. M.; OLIVEIRA, L. M.; MACHADO, C. F.; TONETTI, O. A. O. Uso do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Kielmeyera coriacea* (Spr.) Mart. (pau-santo). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10., 1997, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: ABRATES, 1997. v. 7, n. 1/2, p. 219.

DESWAL, D. P.; CHAND, U. Standardization of the tetrazolium test for viability estimation in ricebean (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi & ohashi) seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 25, p. 409-417, 1997.

FERREIRA, R. A.; GUIMARÃES, M. G. G. C.; PINHO, E. V. R. von; TONETTI, O. A. O. Morfologia de sementes e plântulas e avaliação da viabilidade da semente de sucupira-branca (*Pterodon pubescens* Benth. – Fabaceae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 108-115, 2001.

GRABE, D. F. **Manual do teste de tetrazólio**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 85 p.

ISTA. International Rules for Seed Testing. **Seed Science and Technology**. Zurich, 1993. 363 p. Supplement.

KRZYŻANOWSKI, F.; VIEIRA, R. D.; FRANCA NETO, J. B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, Jan./Feb. 1962.

MALAVASI, M. M.; DAVIDE, A. C.; OLIVEIRA, L. M.; BOTELHO, S. A.; TONETTI, O. A. Avaliação da viabilidade de sementes de *Dipteryx alata* Voq. - Fabaceae (baru) através do teste de tetrazólio. In: SEMINÁRIO PANAMERICANO DE SEMILLAS, 15.; WORKSHOP SOBRE MARKETING EM SEMENTES E MUDAS, 3., 1996, Gramado. **Anais...** Gramado: CESM/FELAS, 1996. p. 43.

MARCOS FILHO, J. Utilização de testes de vigor em programas de controle de qualidade de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 33-35, 1994.

McDONALD. Seed quality assessment. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, p. 265-275, 1998.

MENDONÇA, E. A. F.; RAMOS, N. P.; PAULA, R. C. Viabilidade de sementes de *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel (louro-pardo) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 64-71, 2001.

MOORE, R. P. Interpretation of color differences in tetrazolium testing. **Seed Technologist News**, [S.l.], v. 44, n. 3, p. 22-24, 1972.

OLIVEIRA, L. M. **Avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert) pelos testes de germinação, tetrazólio e raios-X**. 2000. 111 p. Dissertação (Mestrado em Produção Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

OLIVEIRA, L. M. **Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius Ex A. P. de Candolle Standley) envelhecidas natural e artificialmente**. 2004. 160 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

SANTOS, M. F.; RIBEIRO, W. R. C.; FAIAD, M. G. R.; SALOMÃO, A. N. Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica das sementes de caroba (*Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 1-6, 1998.

SENEEWONG, A.; BASKIN, C. C.; BATSON JUNIOR, W. E. The relationship between internal disease organisms and germination of gin run cottonseed (*Gossypium hirsutum* L.). **Journal of Seed Technology**, Lansing, v. 15, n. 2, p. 91-96, 1991.

TODD-BOCKARIE, A. H.; DURYEA, M. L.; WEST, S. H.; WHITE, T. L. Pretreatment to overcome seed coat dormancy in *Cassia sieberiana*. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 21, n. 2, p. 383-398, 1993.

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1994. 164 p.

ZONTA, E. F.; MACHADO, A. A.; SILVEIRA JÚNIOR, P. Sistema de análise estatística (SANEST) para microcomputador: versão 1.0. In: SIMPÓSIO DE ESTATÍSTICA APLICADA À EXPERIMENTAÇÃO AGRONÔMICA, 1985, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: [s.n.], 1985. p. 74-90.