



Uso de tetrazolio en la viabilidad de semillas y biorreguladores en la emergencia de plántulas de araçá-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh)

Review on use of tetrazolium in seed viability and bioregulator in seedling emergence of araçá-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh)

 Sonicley da Silva Maia^{1*},  Oscar José Smiderle²,  Aline das Graças Souza³,
 Salvador Barros Torres⁴,  Clarisse Pereira Benedito⁴

¹Federal University of Roraima, BR 174, km 12, Monte Cristo, Boa Vista, Roraima, Brazil. CP 69300-000

²Department of Seeds, Brazilian Agricultural Research Corporation, BR 174, Km 8, Industrial District, Boa Vista, Roraima, Brazil. CP 69301-970

³Department of Agricultural Sciences, University Center of Maringá, Av. Guedner, 1610, Jardim Aclimação, Maringá, Paraná, Brazil. CP 87050-900

⁴Department of Agronomic and Forestry Sciences, Federal Rural University of the Semi-Arid, Av. Francisco Mota, Bairro Costa e Silva, 572, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. CP 59625-900

RESUMEN: El objetivo de este estudio es realizar una revisión bibliográfica del material científico publicado sobre el uso de la prueba de tetrazolio en la determinación de la viabilidad de las semillas de *Eugenia stipitata*, así como de biorreguladores vegetales para la emergencia de sus plántulas. La investigación sobre esta especie podría revelar y registrar su potencial de producción. *E. stipitata* es una especie frutal originaria de la Amazonía, perteneciente a la familia Myrtaceae. Sin duda, es una especie destacada que potencialmente brinda frutos con grandes beneficios para la salud humana y nuevas alternativas para los sistemas productivos. Según el levantamiento bibliográfico, la emergencia de plántulas de *E. stipitata* puede superar los 180 días después de la siembra, mientras que en la prueba de tetrazolio los resultados se pueden obtener entre 6 y 30 horas. En relación con la latencia física y fisiológica de las semillas, el biorregulador de plantas tiene potencial para promover la emergencia de semillas y plántulas vigorosas. Así, la prueba de tetrazolio puede ser una alternativa para determinar la viabilidad de las semillas de *Eugenia stipitata*. Se requieren diferentes períodos de imbibición y concentraciones del cloruro de 2-3-5-trifenil tetrazolio para las semillas del género *Eugenia*. El uso de los biorreguladores vegetales puede acelerar la emergencia de plántulas del género *Eugenia*.

Palabras clave: especies silvestres, calidad de las semillas, bioestimulantes.

ABSTRACT : The objective of this study is to perform a bibliographic review of the published scientific material on the use of tetrazolium test and plant bioregulator in seeds of *Eugenia stipitata*, as well as in the emergence of its seedlings. Research on this species could reveal and record its production potential. *E. stipitata* is a fruit species native to the Amazon belonging to the Myrtaceae family. Undoubtedly, a prominent species potentially provides fruits with great benefits for human health and new alternatives for production systems. According to the bibliographic survey, the emergence of *E. stipitata* seedlings can exceed 180 days after sowing, while in the tetrazolium test the results can be obtained between 6 and 30 hours. In relation to seed physical and physiological dormancy, the plant bioregulator has potential to promote emergence of vigorous seeds and seedlings. Thus, the tetrazolium test can be an alternative to determine viability of *Eugenia stipitata* seeds. Different priming periods and concentrations of the tetrazolium salt solution are required for seeds of the genus *Eugenia*. Using the plant bioregulator can accelerate the emergence of seedlings of the genus *Eugenia*.

Key words: *Eugenia*, native species, seed quality, biostimulants.

*Autor para correspondencia: sony_maia@hotmail.com

Recibido: 12/02/2022

Aceptado: 20/12/2022

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflicto de intereses

Contribución de los autores: **Conceptualización-** Sonicley da Silva Maia, Oscar José Smiderle. **Investigación-** Sonicley da Silva Maia, Aline das Graças Souza. **Supervisión, Contribución a la revisión crítica y contenidos intelectuales-** Oscar José Smiderle, Salvador Barros Torres, Clarisse Pereira Benedito. **Escritura del borrador inicial, Escritura y edición final-** Sonicley da Silva Maia, Aline das Graças Souza.

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



INTRODUCCIÓN

El género *Eugenia* representa más de 100 especies dentro de la familia Myrtaceae, cuya importancia se debe a su potencial nutracéutico (1) y numerosas propiedades medicinales, como hojas con metabolitos secundarios de interés y otros beneficios, que incluyen desde la reducción de enfermedades crónicas, cardiovasculares, efectos antimicrobianos, hasta el control de diabetes tipo II e inflamatorias crónicas (2,3). Por lo tanto, esta especie es una alternativa de ingresos, ya sea a través de la comercialización de sus frutos o de la producción de semillas y/o plántulas.

Sin embargo, la semilla de esta especie tiene latencia física, determinada por la presencia de la cubierta de la semilla, requiriendo un período de 180 días, después de la siembra, para completar la evaluación de la prueba tradicional de germinación (4).

En este sentido, es necesario recurrir a técnicas que faciliten la caracterización rápida y eficaz de lotes de semillas con alto nivel de sensibilidad a la desecación (5). Así, la prueba de tetrazolio es una alternativa para ayudar a la toma de decisiones sobre la viabilidad de los lotes de semillas, y estimar los niveles de vigor de las plántulas. Esta prueba se basa en la actividad de las enzimas deshidrogenasas que están asociadas al proceso de respiración. Así, la hidrogenación del cloruro de 2-3-5-trifenil tetrazolio favorece la producción de trifenilformazán, una sustancia de color rojo en las células vivas, lo que permite diferenciar las partes vivas (teñidas de rojo) de las muertas (de color blanco lechoso) (6).

Varios estudios demuestran la eficacia de la prueba del tetrazolio en semillas de cultivos anuales. Por otro lado, la metodología de esta prueba es incipiente para especies frutales nativas, como *Eugenia stipitata*, por lo que se requieren estudios para elegir una técnica eficaz que permita diferenciar las partes vivas de las muertas.

Así, se han realizado investigaciones para ajustar y mejorar la metodología de la prueba de tetrazolio para semillas de algunas especies del género *Eugenia*, como *Eugenia pleurantha* (7), *Eugenia involucrata* DC., *Eugenia brasiliensis* Lam., *Eugenia uniflora* L., *Eugenia pyriformis* Cambess. (8, 9) e incluso *Eugenia stipitata* (10).

Dentro de estas perspectivas, los métodos de escarificación y los bioestimulantes funcionan como activadores del metabolismo reactivando los procesos fisiológicos en diferentes fases de la germinación y se han utilizado como tratamientos pregerminativos para optimizar el proceso de germinación de semillas latentes.

Los biorreguladores vegetales tienen la función de establecer el equilibrio hormonal y potenciar el mantenimiento de los procesos fisiológicos que culminan con la actividad de las citoquinas (aumento de la división celular), con influencia en la elasticidad y plasticidad celular (crecimiento), promoviendo diferentes respuestas en el vigor de las plántulas (11,12).

En vista de lo anterior, el objetivo de este estudio es realizar una revisión bibliográfica del material científico

publicado sobre el uso de la prueba de tetrazolio y biorregulador vegetal en semillas de araçá-boi (*Eugenia stipitata*) y en la emergencia de sus plántulas.

Características de las semillas de araçá-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh)

La semilla de araçá-boi tiene una cubierta delgada y coriácea. Su superficie exterior es de color marrón oscuro, con aspecto de piel de ante. Internamente, la cubierta de la semilla es lisa y de color marrón claro. En cuanto a la forma, puede ser reniforme, aplanada, discoidal, con mayor longitud que anchura o viceversa, casi esférica, pero la morfología predominante es reniforme con aplanamiento lateral (13).

La semilla es ex-albuminosa, amilácea y paquicalazal, con una cubierta de estructura compleja impregnada de sustancias fenólicas. El paquicalazal es una estructura importante para las semillas recalcitrantes, ya que está relacionado con estrategias micromorfológicas para neutralizar la pérdida de agua, asegurando así el contenido de agua en el embrión, que es eugenioide y tiene un eje embrionario indiferenciado, por lo que es pseudomonocotiledónea (14).

En general, se han conseguido muchos avances con las semillas de araçá-boi, como: el potencial de regeneración de embriones cuando se suprime parte de sus tejidos, lo que puede proporcionar nuevas plántulas completas (13) y diferencias en los límites de tolerancia a la desecación y al almacenamiento (15).

Aspecto germinativo del araçá-boi

Las semillas del género *Eugenia* son conocidas por su intolerancia a la desecación (recalcitrantes) y su resistente cubierta seminal, que tras la desecación se vuelve resistente a la ruptura por el embrión, lo que provoca un retraso en la germinación (13).

La latencia de las semillas de araçá-boi puede deberse a la presencia de sustancias químicas inhibitoras de la germinación, como el ácido abscísico y los compuestos fenólicos. Siendo sugerida la lixiviación como método para superar la dormancia causada por estos inhibidores. Por otro lado, el fraccionamiento de semillas, puede desencadenar el equilibrio entre producción y eliminación de especies reactivas de oxígeno (peróxido de hidrógeno y oxígeno singlete), que promueven procesos biológicos que favorecen la emergencia de raíces, lo que actúa como un signo positivo en la superación de la dormancia (16).

Aunque el ensayo de germinación es el estándar realizado en el laboratorio, puede requerir mucho tiempo, dependiendo de la especie analizada, y el retraso en la obtención de la germinación conlleva una seria limitación en el proceso de toma de decisiones en la industria semillera; para *E. stipitata*, el ensayo de emergencia dura alrededor de 180 días después de la siembra (4).

Estos hechos obligan a la investigación científica a buscar metodologías prometedoras para la germinación de semillas de especies nativas, que permitan la producción a

gran escala de plántulas de araçá-boi a través de semillas (17). Por lo tanto, el uso de la prueba de tetrazolio puede optimizar la predicción de la viabilidad fisiológica de las semillas de las especies en estudio.

Prueba del tetrazolio y su importancia

La evaluación rápida del potencial fisiológico de las semillas es importante para que los agricultores, los investigadores y las empresas utilicen sus recursos de forma racional. En ese sentido, se han utilizado diferentes procedimientos para evaluar la viabilidad de las semillas en la identificación de lotes con alto o bajo vigor (18, 19). Entre ellos, la prueba de tetrazolio se destaca por generar resultados promisorios para determinar la viabilidad de semillas de cultivos frutales nativos. Esta prueba es relativamente sencilla, pero el precio de la sal es elevado, por lo que se recomiendan metodologías ajustadas para realizarla. En consecuencia, la prueba del tetrazolio se ha mostrado como una alternativa interesante debido a la calidad y rapidez en la determinación de la viabilidad y vigor de las semillas, permitiendo obtener resultados generalmente en menos de 24 horas (20).

Fisiología de la prueba del tetrazolio

La prueba del tetrazolio se basa en la inmersión de semillas en una solución incolora de sal de cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio, utilizada como indicador del proceso de reducción que tiene lugar en el interior de las células vivas. En este proceso, los iones H^+ liberados durante la respiración de los tejidos vivos son transferidos por un grupo de enzimas, en particular la deshidrogenasa del ácido málico, e interactúan con la sal de tetrazolio, que se reduce a un compuesto rojo, estable y no difusible denominado trifenilformazán, lo que indica que existe actividad respiratoria y viabilidad celular del tejido (6).

La formación de rojo carmín claro indica tejido viable, mientras que el rojo carmín intenso revela tejido deteriorado, en el caso de los tejidos en descomposición, liberan cantidades muy pequeñas de iones hidrógeno, insuficientes para la reacción con la sal de tetrazolio (21), por lo que no se producirá la reducción de la sal y el tejido muerto contrastará como blanco (6).

Estas diferencias de tinción, observadas en las semillas después de someterlas a la solución de tetrazolio, son las principales características que deben tenerse en cuenta en la interpretación de los resultados de las pruebas, además de si la intensidad de la tinción de las semillas varía entre especies (22).

Ajuste de la prueba de tetrazolio

La eficacia de la prueba para evaluar la viabilidad y el vigor de las semillas está relacionada con la aplicación de metodologías ajustadas para cada especie, con el fin de definir las condiciones más apropiadas para la preparación (23). Tal es el caso de algunas especies que necesitan pasar por etapas preparatorias antes de la inmersión en la

solución de tetrazolio para que las semillas la absorban adecuadamente (24). Así, el proceso de imbibición desencadena la actividad fisiológica de la semilla y facilita la eliminación de la cubierta de la semilla y la exposición del embrión al contacto con la solución utilizada (25). Tras la imbibición, muchas especies requieren aún técnicas preparatorias, que implican la punción, el corte y/o la eliminación de la cubierta de la semilla (24).

El seccionamiento longitudinal, seguido de la eliminación de la cubierta de la semilla, antes de la inmersión en la solución de tetrazolio, a pesar de ser una operación delicada y laboriosa, permite reducir el tiempo necesario para que las semillas adquieran la tinción (26).

Por lo tanto, para la realización de la prueba de tetrazolio es indispensable realizar procedimientos para determinar el cebado y el corte de las semillas antes de someterlas a la sal de tetrazolio, así como la tinción, variando la concentración de la solución de sal de tetrazolio, el tiempo y la temperatura de cebado, que se determinan para cada especie (9, 21, 23).

En algunas especies, para obtener resultados satisfactorios de tinción por la sal de tetrazolio, es necesario realizar un cebado para mejorar la penetración de la solución en los tejidos de interés a evaluar, así como ajustes en la concentración de la solución de tetrazolio, tiempo y temperatura de cebado (27). La temperatura del aire contribuye a aumentar la viscosidad del agua, lo que acelera su absorción por la semilla en la fase I del patrón trifásico de germinación (28).

La elección del método adecuado debe basarse en la facilidad de identificación de tejidos viables e inviables y en la capacidad de diferenciar lotes con distintas cualidades fisiológicas (29). En cuanto a la temperatura, el color de tinción debe desarrollarse entre 35 y 40 °C, porque es más rápido, pero la prueba puede realizarse normalmente a temperaturas desde 20 a 40 °C (30).

Potencial de la prueba del tetrazolio en la viabilidad de las semillas de *Eugenia* spp

En la [Tabla 1](#) se enumeran los mejores resultados de la prueba del tetrazolio y en la [Figura 1](#) se muestran los resultados de la tinción de la prueba del tetrazolio en diferentes especies del género *Eugenia*.

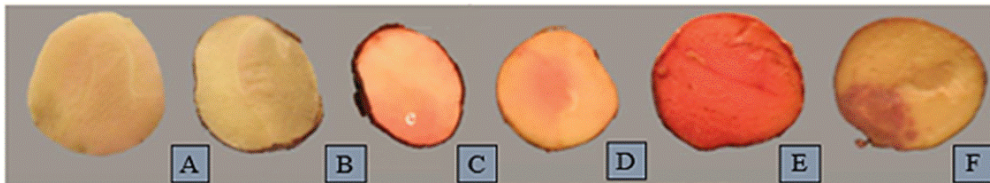
Como se muestra en la [Tabla 1](#) y en la [Figura 1](#), a pesar de pertenecer al mismo género, las especies presentan diferencias entre las combinaciones ideales para el uso de la prueba de tetrazolio. Tales variaciones enfatizan la necesidad de adaptar la metodología de la prueba de tetrazolio para cada especie, ya que estos resultados pueden estar relacionados con la especificidad y la variación genética, la reducción del contenido de humedad durante el período de almacenamiento o el grado de madurez en el momento de la cosecha de los frutos, lo que puede alterar el equilibrio hormonal de las semillas (26).

Influencia de los biorreguladores en el proceso de germinación de las semillas

Los biorreguladores del crecimiento, también llamados bioestimulantes o fitohormonas, contienen en su

Tabla 1. Preacondicionamiento, concentración, tiempo/temperatura de inmersión y viabilidad de semillas obtenidas por la prueba de tetrazolio en diferentes especies del género *Eugenia*

Especies	Preacondicionamiento	Concentración	Tiempo/ Temperatura	Viabilidad	Referencia
<i>E. involucrate</i>	Inmersión en agua destilada (24h/30 °C)	0.5 %	2h/30 °C	87 %	(8)
<i>E. pyriformis</i>	Inmersión en agua destilada (24h/30 °C)	0.5 %	6h/30 °C	83 %	(8)
<i>E. pleurantha</i>	Inmersión en agua destilada (12h/30 °C)	0.1 %	4h/30 °C	88 %	(7)
<i>E. brasiliensis</i>	Inmersión en agua destilada (3h/25 °C)	0.250 %	3h/35 °C	85 %	(9)
<i>E. uniflora</i>	Inmersión en agua destilada (3h/25 °C)	0.125 %	3h/35 °C	83 %	(9)
<i>E. stipitata</i>	-	1 %	24h/30 °C	-	(10)



A a F= Tinción de semillas de *E. brasiliensis*, *E. uniflora* y *E. pyriformis* en la prueba del tetrazolio; A y B = semillas intactas, lo que demuestra que no adquieren tinción suficiente para el análisis; C y D = semillas viables; E y F = semillas inviables; y superficie del embrión tras el corte longitudinal. Escala de 1 cm (9)

Figura 1. Tinción de viabilidad en semillas de diferentes especies de *Eugenia* mediante la prueba de tetrazolio

composición: aminoácidos, sustancias húmicas (ácidos húmicos y ácidos fúlvicos), hormonas del crecimiento vegetal, vitaminas y otros elementos diversos, y pueden contener sustancias orgánicas procedentes de extractos de algas (11).

Los biorreguladores funcionan como activadores del metabolismo de las semillas y de las células vegetales, reactivan los procesos fisiológicos en diferentes fases de desarrollo y estimulan el crecimiento de las raíces (12, 31). Stimulate® es un producto comercial conocido por contener tres hormonas vegetales en su composición, 0,009 % de kinetina, 0,005 % de ácido giberélico (GA₃) y 0,005 % de ácido indolil butírico (AIB), fitorreguladores como auxinas, giberelinas y citoquinas (32).

Las auxinas actúan, principalmente, en la regulación del crecimiento y promoción del enraizamiento de primordios radiculares, mientras que las giberelinas tienen como una de sus principales funciones la estimulación de la división y elongación celular, además de tener mayor influencia en el proceso de germinación, ya que tienen un efecto estimulante. Tanto en presencia como en ausencia de dormancia en la semilla, actúan en la activación del crecimiento vegetativo del embrión, movilización de las reservas del endospermo y debilitamiento de la capa de endospermo que rodea al embrión (12). A su vez, las citoquininas estimulan, principalmente, los procesos de división celular (citocinesis) (33).

La concentración ideal del producto comercial compuesto por kinetina, ácido giberélico y ácido indol butírico optimizó el porcentaje de emergencia en la especie *Acacia mangium* (34). En *Hymenaea courbaril*, la dosis de 2.0 ml L⁻¹ de regulador vegetal resultó en un incremento del 18 % en la altura de los brotes, comparado con el testigo a los 90 DDT; sin embargo, no promovió un incremento en la clorofila a y b (32). Concentraciones inadecuadas de biorreguladores

vegetales pueden provocar deterioro por alteraciones fitosanitarias, fisiológicas, bioquímicas y citológicas en las semillas, culminando en baja emergencia o incluso muerte embrionaria (35).

Sin embargo, existen pocos estudios con biorreguladores en semillas nativas de la Amazonia (31), lo que puede ser un campo de estudio para mejorar el vigor de las plántulas, permitiendo la obtención de plántulas de calidad.

En vista de lo anterior, las especies del género *Eugenia* tienen potencial como cultivos frutales, siendo la semilla la principal vía de propagación. Además, el fraccionamiento de semillas de araçá-boi tiene la ventaja de homogeneizar la emergencia y mejorar las plantas en el vivero, resultando en un mejor rendimiento en el uso del material de propagación y en la calidad de las plántulas producidas.

CONCLUSIONES

Los estudios realizados permitieron explorar; relacionar y comprender las respuestas físicas y fisiológicas de semillas del género *Eugenia*, sometidas a diferentes técnicas aplicadas a las semillas (fraccionamiento, prueba de tetrazolio y biorregulador vegetal), ya que el teniendo en cuenta las informaciones técnicas y científicas, se evitan inferencias y resultados contradictorios. Vale la pena mencionar que estos y otros estudios que proporcionan información para mejorar el sistema tradicional de obtención de plántulas de *Eugenia stipitata* requieren inversiones y cambios conceptuales, gerenciales y técnicos en el análisis de semillas para su real adopción. Por ejemplo, la prueba de tetrazolio puede ser una alternativa para determinar en menor tiempo la viabilidad de las semillas de *Eugenia stipitata*; a su vez, se requieren diferentes periodos de imbibición y concentraciones de cloruro de 2-3-5-trifenil tetrazolio para las semillas de las diferentes especies del género *Eugenia*. A su vez, el uso

del biorregulador en la concentración adecuada puede optimizar la tasa de emergencia para la producción a gran escala de plántulas del género *Eugenia*.

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial a las agencias de investigación brasileñas Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq) y Coordinación para la Mejora del Personal de la Enseñanza Superior-Brasil (CAPES) por el apoyo financiero.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lamarca EV, Baptista W, Rodrigues DS, Oliveira Júnior CJF. Contribuições do conhecimento local sobre o uso de *Eugenia* spp. em sistemas de policultivos e agroflorestais. Revista Brasileira de Agroecologia. 2013;8:119-130. Available from: <https://revistas.aba-agroecologia.org.br/rbagroecologia/article/view/13256>.
2. Pereira MC, Steffens RS, Jablonski A, Hertz PFO, Rios A, Vizzotto M, Flôres SH. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 2012;60:3061-3067. doi: 10.1021/jf205263f.
3. Famuyide IM, Aro AO, Fasina FO, Eloff JN, McGaw LJ. Antibacterial and antibiofilm activity of acetone leaf extracts of nine under-investigated south African *Eugenia* and *Syzygium* (Myrtaceae) species and their selectivity indices. BMC complementary and alternative medicine. 2019;19(1):141. doi: 10.1186/s12906-019-2547-z.
4. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instruções para análise de sementes de espécies florestais. 2013 Available from: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/instrucoes-para-analise-de-sementes-de-especies-florestais/view>.
5. Gentil DFO, Ferreira SAN. Viabilidade e superação da dormência em sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. sororia). Acta Amazonica. 1999;29:21-31. doi: 10.1590/1809-43921999291031.
6. França Neto JDB, Krzyzanowski FC. Metodologia do Teste de Tetrazólio em Sementes de Soja. 1st ed. Londrina: Embrapa Soja; 2018, 108 p. Available from: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1098452/metodologia-do-teste-de-tetrazolio-em-sementes-de-soja>.
7. Masetto TE, Davide AC, Faria JMR, Da Silva EAA, Rezende RKS. Avaliação da qualidade de sementes de *Eugenia pleurantha* (Myrtaceae) pelos testes de germinação e tetrazólio. Agrarian. 2009;2(5):33-46. Available from: <https://ojs.ufgd.edu.br/index.php/agrarian/article/view/802>.
8. Cripa FB, Freitas LCN, Grings AC, Bortolini MF. Tetrazolium test for viability estimation of *Eugenia involucrata* DC. and *Eugenia pyriformis* Cambess seeds. Journal of Seed Science. 2014;36(3):305-311. doi: 10.1590/2317-1545v36n3991.
9. Lamarca EV, Barbedo CJ. Methodology of the tetrazolium test for assessing the viability of seeds of *Eugenia brasiliensis* Lam., *Eugenia uniflora* L. and *Eugenia pyriformis* Cambess. Journal of Seed Science. 2014;36(4):427-434. doi: 10.1590/2317-1545v36n41029.
10. Calvi GP, Aud FF, Ferraz IDK, Pritchard HW, Kranner I. Analyses of several seed viability markers in individual recalcitrant seeds of *Eugenia stipitata* McVaugh with totipotent germination. Plant Biology. 2016;19(1):6-13. doi: 10.1111/plb.12466.
11. Kolachevskaya OO, Sergeeva L, Floková K, Getman IA, Lomin SN, Alekseeva VV, et al. Auxin synthesis gene *tms1* driven by tuberspecific promoter alters hormonal status of transgenic potato plants and their responses to exogenous phytohormones. Plant Cell Reports. 2017;36(2):419-435. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00299-016-2091-y>.
12. Taiz L, Zeiger E, Moller IM, Murphy A. Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal. 6th ed. Artmed Editora; 2017. 857 p. Available from: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=PpO4DQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR1&dq=Fisiologia+e+Desenvolvimento+Vegetal&ots=7RGgtRKUQf&sig=naVcej7-22XCsHGMurUkhQt-yFY#v=onepage&q=Fisiologia%20e%20Desenvolvimento%20Vegetal&f=false>.
13. Anjos AMG, Ferraz IDK. Morfologia, germinação e teor de água das sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. sororia). Acta Amazonica. 1999;29:337-348. doi: 10.1590/1809-4392199929334.
14. Mendes AMS, Mendonça MS. Análise anatômica e histoquímica de sementes maduras de *Eugenia stipitata* ssp. sororia Mc Vaugh (araçá-boi) - Myrtaceae. Brazilian Journal of Development. 2020;6(10):77510-77522. doi: 10.34117/bjdv6n10-251.
15. Kohama S, Maluf AM, Bilia DAC, Barbedo CJ. Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixameira). Revista Brasileira de Sementes. 2006;28:72-78. doi: 10.1590/S0101-31222006000100010.
16. Amorim IP, Silva JPN, Barbedo CJ. As sementes de *Eugenia* spp. (Myrtaceae) e seus novos conceitos sobre propagação. Hoehnea. 2020;47:e292020. doi: 10.1590/2236-8906-29/2020.
17. Smiderle OJ, Sousa RCP. Dormência em sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth - Fabaceae - Papilionidae). Revista Brasileira de Sementes. 2003;25(2):48-52. doi: 10.1590/S0101-31222003000100012.
18. Rodrigues MHBS, da Silva Santos A, de Melo EN, Da Silva JN, Oliveira CJA. Vigor de sementes: métodos para análise e fatores que o influenciam. Meio Ambiente (Brasil). 2020;2(3). Available from: <https://meioambientebrasil.com.br/index.php/MABRA/article/view/53>.
19. França Neto JB, Henning AA, Krzyzanowski FC, Lorini I. DIACOM: 35 anos de capacitação nos testes de tetrazólio e Patologia de sementes de soja. 2015. Available from: <https://seednews.com.br/artigos/1381-35-anos-de-capacit>

- acao-nos-testes-de-tetrazolio-e-patologia-de-sementes-de-soja-edicao-setembro-2015.
20. Dias MCLL, Alves SJ. Avaliação da viabilidade de sementes de *Panicum maximum* Jacq pelo teste de tetrazólio. Revista Brasileira de Sementes. 2008;30(3):152-158. doi: [10.1590/S0101-31222008000300020](https://doi.org/10.1590/S0101-31222008000300020).
 21. MARCOS FILHO J., 2015 - Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. - Londrina: ABRATES, 660. Available from: <https://repositorio.usp.br/item/002724502>.
 22. Bento SRSO, Santos AEO, Melo DRM, Torres SB. Eficiência dos testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de mulungu (*Erythrina velutina* WILLD.). Revista Brasileira de Sementes. 2010;32(4):111-117. doi: [10.1590/S0101-31222010000400012](https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000400012).
 23. Guedes RS, Alves EU, Gonçalves EP, Viana JS, Silva KB, Gomes MSS. Metodologia para teste de tetrazólio em sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2010;12(1):120-126. doi: [10.1590/S1516-05722010000100017](https://doi.org/10.1590/S1516-05722010000100017).
 24. Costa CJ, Santos CP. Teste de tetrazólio em sementes de leucena. Revista Brasileira de Sementes. 2010;32(2):66-72. doi: [10.1590/S0101-31222010000200008](https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000200008).
 25. Cunha MCL, Gomes IHRA. Viabilidade de sementes de *Erythrina velutina* Willd pelo teste de tetrazólio. Nativa. 2015;3(3):196-200. doi: [10.14583/2318-7670.v03n03a08](https://doi.org/10.14583/2318-7670.v03n03a08).
 26. Sarmiento MB, Silva ACS, Villela FA, Santos KLD, Mattos LCP. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica em sementes de goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* O. Berg Burret). Revista Brasileira de Fruticultura. 2013;35(1):270-276. doi: [10.1590/S0100-29452013000100031](https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000100031).
 27. Zorzal TA, Fantinato DE, Campos LM, Luz ACC, Corte VB. Teste do tetrazólio para estimativa da viabilidade de sementes. Natureza on line. 2015;13(3):144-149. Available from: https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5&q=Teste+do+tetraz%C3%B3lio+para+estimativa+da+viabilidade+de+sementes&btnG=.
 28. Carvalho SMC, Torres SB, Benedito CP, Nogueira NW, Souza AAT, Souza Neta MLD. Viability of *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz var. *ferrea* seeds by tetrazolium test. Journal of Seed Science. 2017; 39(1):7-12. doi: [10.1590/2317-1545v39n1163784](https://doi.org/10.1590/2317-1545v39n1163784).
 29. Azerêdo GA, Paula RC, Valeri SV. Viabilidade de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. pelo teste de tetrazólio. Revista Brasileira de Sementes. 2011;33(1):061-068. doi: [10.1590/S0101-31222011000100007](https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000100007).
 30. Añez LMM, Coelho MFB, Albuquerque MCF, Mendonça EAF, Dombroski JLD. Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2007;9(3):82-88. Available from: <https://docplayer.com.br/68834449-Padronizacao-da-metodologia-do-teste-de-tetrazolio-para-sementes-de-jatropha-elliptica-m-arg-euphorbiaceae.html>.
 31. Amaro HTR, Costa RC, Porto EMV, Araújo ECM, Fernandes HMF. Tratamento de sementes com produtos à base de fertilizantes e reguladores de crescimento. Pesquisa Agropecuária Gaúcha. 2020;26(1):222-242. doi: [10.36812/pag.2020261222-242](https://doi.org/10.36812/pag.2020261222-242).
 32. Smiderle OJ, Souza AG, Maia SS, Reis ND, Costa JS, Pereira GS. Do stimulate® and acadian® promote increased growth and physiological indices of *Hymenaea courbaril* seedlings?. Revista Brasileira de Fruticultura. 2022;44(2):e-872. doi: [10.1590/0100-29452022872](https://doi.org/10.1590/0100-29452022872).
 33. Chrysargyris A, Xylia P, Anastasiou M, Pantelides I, Tzortzakis N. Effects of *Ascophyllum nodosum* seaweed extracts on lettuce growth, physiology and fresh-cut salad storage under potassium deficiency. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2018;98(15):5861-5872. doi: [10.1002/jsfa.9139](https://doi.org/10.1002/jsfa.9139).
 34. Carvalho JHN, Lima APL, Lima SF. Adição de moínha de carvão e de Stimulate® na formação de mudas de *Acacia mangium*. Revista de Agricultura Neotropical. 2018;5(1):66-74. doi: [10.32404/rean.v5i1.2126](https://doi.org/10.32404/rean.v5i1.2126).
 35. Singh V, Sergeeva L, Ligterink W, Aloni R, Zemach H, Doron FA, Yang J, Zhang P, Shabtai S, Firon N. Gibberellin Promotes Sweetpotato Root Vascular Lignification and Reduces Storage-Root Formation Frontiers Plant Science. 2019;10(3):1320. doi: [10.3389/fpls.2019.01320](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01320).