

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE SEMENTES**



TESE

**ATIVIDADE RESPIRATÓRIA EM DIFERENTES ESPÉCIES COMO
MÉTODO PARA AVALIAÇÃO DO VIGOR**

JULIANA DE SOUZA DODE

Pelotas, 2011

JULIANA DE SOUZA DODE

**ATIVIDADE RESPIRATÓRIA EM DIFERENTES ESPÉCIES COMO
MÉTODO PARA AVALIAÇÃO DO VIGOR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Fisiologia Sementes).

Orientador: Dario Munt de Moraes
Co-Orientador: Geri Meneghello

Pelotas, 2011

Dados de catalogação na fonte:

(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

D643a Dode, Juliana de Souza

Atividade respiratória em diferentes espécies como método para avaliação do vigor / Juliana de Souza Dode; orientador Dario Munt de Moraes; co-orientador Geri Meneghello e Silmar Peske - Pelotas,2011.-52f. ; tab. - Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

1. Sementes 2. Respiração 3.Viabilidade
4.Vigor I.Moraes, Dario Munt de(orientador) II
.Título.

Aprovada em: 17 de Fevereiro de 2011.

Banca examinadora:

Dr. Dario Munt de Moraes (UFPel).....

Dr. Silmar Peske (UFPel/FAEM).....

Dr. Wolmer Brod Peres (UFPel/FAEM).....

Dra. Patrícia Marini Madruga (UFPel).....

Dr. Élbio Cardozo (EMBRAPA).....

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Pelotas pela oportunidade de participar do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Professor Dr. Dario Munt de Moraes pela orientação, amizade e apoio na condução e elaboração deste trabalho.

Ao Dr. Geri Eduardo Meneghello pela co-orientação, amizade e ensinamentos transmitidos.

Aos todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas

A todos os funcionários do Departamento de Botânica: Luiza, Rudinei, Suzi, Ari, Serginho e Honório pela agradável convivência.

Aos amigos e colegas Fernanda Amaral, Marivan Pinho, Fabiana Timm, Jadi, Leomara, Mirela, Verônica e Irene pelo companheirismo, agradável convivência, encorajamento, carinho e amizade em todos os momentos.

A minha família que é meu ponto de apoio e gratidão por tudo.

A Deus.

RESUMO

DODE, Juliana. **Atividade respiratória em diferentes espécies s como método alternativo para avaliação do vigor.** 2011. 52 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação Em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas – RS.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade respiratória pelo método de Pettenkofer como método para avaliação da qualidade fisiológica em diferentes espécies de sementes. Cinco lotes de soja cv. Taura, trigo cv. CD115 e girassol cv. MG2 foram utilizados. Além da determinação da atividade respiratória, foram realizados os seguintes testes de referência: germinação, primeira contagem da germinação, condutividade elétrica, emergência de plântulas, comprimento de parte aérea, raiz e massa fresca e seca. Os resultados dos testes de referência e da atividade respiratória das sementes permitiram a classificação dos lotes em diferentes níveis de qualidade fisiológica. O tempo de embebição e de permanência das sementes de soja, trigo e girassol no aparelho de Pettenkofer foi suficiente para proporcionar a distinção dos lotes. De acordo com os resultados, conclui-se que lotes de alto vigor apresentam menor atividade respiratória que os de baixo vigor. A determinação da atividade respiratória, pelo método de Pettenkofer, é eficiente, rápida e útil como teste alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes de soja cv. Taura, trigo cv. CD115 e girassol cv. MG2.

Palavras-chave: respiração, viabilidade e vigor.

ABSTRACT

DODE, Juliana. **Atividade respiratória em diferentes espécies como método alternativo para avaliação do vigor.** 2011. 52f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação Em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas – RS.

This study aimed to describe and analyze the efficiency of the method of Pettenkofer in determining the respiratory activity for the differentiation of seeds lots on its vigor. Five lots of soybean seeds cv. Taura, wheat cv. Cd115 and sunflower cv. MG2 were used. Besides the determination of respiratory activity, the following tests were conducted as reference: germination, first count of germination, electrical conductivity, seedlings emergence, length of the shoot and root, and dry mass. The results of reference tests and respiratory activity of seeds allowed the classification of lots at different levels of physiological quality. The timing of soaking and permanence of soybean, wheat and sunflower, in the equipment of Pettenkofer was enough to provide the distinction of lots. According to the results, it appears that lots of high vigor show more respiratory activity than the lower vigor. The determination of respiratory activity, for the method of Pettenkofer, is efficient, quick and useful as alternative test in the differentiation of vigor of lots, of soybean seeds cv. Taura, wheat cv. Cd115 and sunflower cv. MG2

Keywords: respiration, viability and vigor.

Lista de Tabelas

CAPITULO 1

- Tabela 1** – Germinação (G), primeira contagem da germinação (PC) e condutividade elétrica (CE), três e 24 horas de embebição, em cinco lotes de sementes de soja cv. Taura11
- Tabela 2** - Comprimento da parte aérea (CPA) e raiz (CR), em cinco lotes de sementes de soja cv. Taura.....11
- Tabela 3** – Massa fresca da parte aérea (MFPA) e raiz (MFR), e massa fresca total (MFT) de cinco lotes de sementes de soja cv. Taura.....12
- Tabela 4** – Massa seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) e massa seca total de cinco lotes de sementes de soja cv. Taura.....12
- Tabela 5** – Germinação (G), emergência em campo (EC) e índice de velocidade de emergência (IVE) e atividade respiratória (AR) de cinco lotes de sementes de soja cv. Taura.....13
- Tabela 6** – Coeficiente de correlação entre as variáveis analisadas nos testes de avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja cv. Taura.....16

CAPITULO 2

- Tabela 1** – Germinação (G), primeira contagem da germinação (PC) e condutividade elétrica (CE), três e 24 horas de embebição, em cinco lotes de sementes de trigo cv. CD11524
- Tabela 2** - Comprimento da parte aérea (CPA) e raiz (CR), em cinco lotes de sementes de trigo cv. CD115.....25

Tabela 3 – Massa fresca da parte aérea (MFPA) e raiz (MFR), e massa fresca total (MFT) de cinco lotes de sementes de trigo cv. CD115.....	25
Tabela 4 – Massa seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) e massa seca total de cinco lotes de sementes de trigo cv. CD115.....	26
Tabela 5 – Germinação (G), emergência em campo (EC) e índice de velocidade de emergência (IVE) e atividade respiratória (AR) de cinco lotes de sementes de trigo cv. CD115.....	27
Tabela 6 – Coeficiente de correlação entre as variáveis analisadas nos testes de avaliação da qualidade fisiológica de sementes de trigo cv. CD115.....	29

CAPITULO 3

Tabela 1 – Germinação (G), primeira contagem da germinação (PC) e condutividade elétrica (CE), três e 24 horas de embebição, em cinco lotes de sementes de girassol cv. MG2.....	38
Tabela 2 - Comprimento da parte aérea (CPA) e raiz (CR), em cinco lotes de sementes de girassol cv. MG2.....	39
Tabela 3 – Massa fresca da parte aérea (MFPA) e raiz (MFR), e massa fresca total (MFT) de cinco lotes de sementes de girassol cv. MG2.....	39
Tabela 4 – Massa seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) e massa seca total de cinco lotes de sementes de girassol cv. MG2.....	39
Tabela 5 – Germinação (G), emergência em campo (EC) e índice de velocidade de emergência (IVE) e atividade respiratória (AR) de cinco lotes de sementes de girassol cv. MG2.....	40
Tabela 6 – Coeficiente de correlação entre as variáveis analisadas nos testes de avaliação da qualidade fisiológica de sementes de girassol cv. MG2.....	42

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO 1	
RESUMO.....	4
ABSTRACT.....	5
INTRODUÇÃO.....	5
MATERIAL E MÉTODOS.....	7
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	10
CONCLUSÕES.....	17
CAPÍTULO 2	
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	18
INTRODUÇÃO.....	19
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
CONCLUSÕES.....	30
CAPÍTULO 3	
RESUMO.....	31
ABSTRACT.....	32
INTRODUÇÃO.....	32
MATERIAL E MÉTODOS.....	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
CONCLUSÕES.....	43

CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	44
REFERÊNCIAS.....	46

1- INTRODUÇÃO GERAL

A análise de sementes avalia através de procedimentos técnicos a qualidade de um lote de sementes, entendendo-se como qualidade, o conjunto de atributos de natureza genética, física, fisiológica e sanitária que afetam a capacidade de originar plantas com maior produtividade (Tillmann & Miranda, 2006). A alta qualidade da semente reflete diretamente na cultura resultante, em termos de uniformidade da população, da ausência de moléstias transmitidas pela semente, do alto vigor das plantas e da maior produtividade (Popinigis, 1977; Carvalho & Nakagawa, 2000).

Há vários testes que determinam a qualidade das sementes, como o teste de germinação sob condições controladas, o qual é muito útil para avaliar a capacidade de germinação, porém, este não fornece informações sobre o vigor das sementes, além de exigir vários dias para obter resultados (Bewley & Black, 1994; Marcos Filho, 1999a).

Em lotes com alta homogeneidade, a qualidade fisiológica pode ser razoavelmente bem avaliada por meio do teste padrão de germinação. Entretanto, os lotes que possuem alto grau de heterogeneidade, o teste padrão de germinação apresenta baixa sensibilidade e, nesse caso, os testes de vigor representam melhor o desempenho dos lotes em nível de campo (Spina & Carvalho, 1986), onde as sementes estão submetidas a variações de umidade do solo, radiação, competição e condições desfavoráveis para que a sementes expressem todo seu potencial germinativo (Hilhorst et al., 2001). Portanto, é questionada a validade do teste de germinação para predizer o comportamento

das sementes no campo, onde as condições ideais do ambiente dificilmente ocorrem (Byrum & Copeland, 1995).

O vigor das sementes é o reflexo de um conjunto de características que determinam o seu potencial fisiológico, ou seja, a capacidade de apresentar desempenho adequado quando expostas a condições diferentes de ambiente. Em função de sua importância, vários métodos têm sido desenvolvidos visando à avaliação segura da qualidade fisiológica de sementes (Marcos Filho, 1994).

O desenvolvimento de testes para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes, bem como a padronização destes, é essencial para a constituição de um eficiente controle de qualidade (Muniz et al., 2004). Uma das principais exigências para a avaliação do vigor de sementes refere-se à obtenção de resultados confiáveis em um período de tempo relativamente curto, permitindo a agilização das tomadas de decisão.

A escolha do método de avaliação do vigor deve observar o atendimento dos quesitos de rapidez, objetividade, simplicidade, economia e reprodutibilidade, além de permitir a interseção dos dados obtidos em diferentes testes (Caliari & Silva, 2001).

Os testes rápidos mais estudados estão relacionados com os eventos iniciais da seqüência de deterioração (Delouche & Baskin, 1973) como a degradação das membranas celulares, redução da atividade respiratória e diminuição da biossíntese (Dias & Marcos Filho, 1996). Geralmente, são baseados na coloração dos tecidos vivos das sementes (tetrazólio), ou na permeabilidade das membranas (condutividade elétrica). A maioria dos métodos apresenta certas limitações de ordem prática, técnica ou econômica, mas todos apresentam potencialidades variáveis, que precisam ser trabalhadas, mesmo porque a pesquisa relativa a testes rápidos, ainda, não foi completamente esgotada (Amaral, 1984).

Uma alternativa viável e rápida para avaliar o vigor seria submeter às sementes à medição de sua atividade respiratória em condição de laboratório. Respiração é a oxidação de substâncias orgânicas num sistema celular com a liberação gradativa de energia, por meio de uma série de reações, tendo oxigênio molecular como acceptor final de elétrons. A respiração é a primeira atividade metabólica, acompanhando a reidratação da semente, que de valores ínfimos, sobe a níveis bastante elevados, poucas horas apenas após o início

da embebição (Popinigis, 1977; Ferreira & Borghetti, 2004; Marengo & Lopes, 2005).

A respiração implica na perda de matéria seca e em trocas gasosas. Os métodos utilizados para medir a respiração são baseados na determinação de algumas dessas características. A medida da variação da massa da matéria seca requer grande quantidade de material, além da sua destruição. Os métodos baseados em trocas gasosas são mais sensíveis, requerem menos materiais e não são destrutivos, podendo consistir na medição manométrica do O_2 consumido (respirômetro de Warburg, por exemplo) e no eletrodo de Clark (potenciometria), ou na medição de CO_2 liberado, utilizando métodos físicos como o analisador de gás infravermelho (IRGA), ou físico-químicos que se baseiam na retenção de CO_2 em uma base e em sua determinação por titulometria, calorimetria ou condutivimetria (Maestri et al., 1998).

Dentre as diferentes formas de verificação da qualidade fisiológica em sementes, o processo de respiração merece atenção, pela alta relação entre este fenômeno e a qualidade da semente.

O presente trabalho teve como objetivos determinar a atividade respiratória de sementes pelo método físico-químico de Pettenkofer, relacionar a compatibilidade dos seus resultados com outros testes de determinação da qualidade fisiológica de sementes e avaliar a eficiência do método para diferenciar o vigor de lotes em curto espaço de tempo, visando oferecer um novo teste econômico e de fácil manipulação para uso em laboratório de análise de sementes.

CAPÍTULO I

ATIVIDADE RESPIRATÓRIA EM SEMENTES DE SOJA COMO MÉTODO PARA DIFERENCIAÇÃO DE LOTES

RESUMO - A indústria sementeira com a evolução tecnológica constante exige cada vez mais rapidez na identificação de qualidade de sementes. Portanto, este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência e rapidez do método de Pettenkofer na determinação da atividade respiratória para diferenciar o vigor de lotes de sementes de soja. Cinco lotes de sementes de soja cv. Taura foram utilizados. Além da determinação da atividade respiratória, foram realizados os seguintes testes de referência: grau de umidade, germinação, primeira contagem da germinação, condutividade elétrica, emergência de plântulas, comprimento de parte aérea e raiz, massa fresca da parte aérea e raiz, massa seca da parte aérea e raiz, massa fresca e seca total. Os resultados dos testes de referência e da atividade respiratória das sementes permitiram a classificação dos lotes em diferentes níveis de qualidade fisiológica. A determinação da atividade respiratória, pelo método de Pettenkofer, é eficiente, rápido e útil como teste alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes de soja.

Palavras-chave: *Glycine Max* L., respiração, viabilidade e vigor.

ABSTRACT - The seed industry with the constant technological developments increasingly requires quick identification of seed quality. Therefore, this study aimed to evaluate the efficiency and speed of the Pettenkofer method for the breathing activity determination in order to distinguish the effect of the vitality of seeds. Five seed lots of soybean cv. Taura were used. Besides the determination of the breathing activity, the following benchmark tests were performed: moisture content, germination, first count germination, electrical conductivity, seedling emergence, shoot length, root and total dry mass. The results of benchmark tests and breathing activity of seeds allowed the classification of the lots at different levels of vitality. The determination of breathing activity by the Pettenkofer method is efficient, fast and useful as an alternative test to distinguish soybean seed lots.

Keywords: *Glycine Max* L, respiration, viability and vigor.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o Brasil tem apresentado desempenho crescente em termos de produtividade e produção de soja. O controle de qualidade de sementes de soja é de fundamental importância dentro do cenário de evolução tecnológica constante impulsionada pela competitividade do mercado.

Os testes de vigor têm se constituído em ferramentas de uso cada vez mais rotineiro pela indústria de semente para a determinação do potencial fisiológico (Barros & Marcos Filho, 1997).

A avaliação rápida e precisa da qualidade das sementes, viabilizando a eliminação de lotes de sementes de baixa qualidade é de fundamental importância. Testes precisos e de execução em curto espaço de tempo contribuem para diminuir custos, prevenir prejuízos e para melhor aproveitamento da mão-de-obra envolvida no trabalho de controle de qualidade (Amaral & Peske, 1984), e para a constituição de um eficiente controle interno de qualidade (Muniz et al., 2004). Para isto é fundamental que sejam de

execução fácil e rápida, além de apresentarem baixo custo e alta correlação com os testes utilizados como análise de rotina em laboratório (Fernandes et al., 1987).

O método oficial para determinar a qualidade da semente é o teste de germinação, que, embora muito útil, é demorado e não informa sobre o potencial de desempenho considerando seu vigor, longevidade e emergência de plântulas em campo. Assim, é de fundamental importância a utilização de testes complementares, que avaliem a qualidade da mesma permitindo maior diferenciação entre lotes e de modo rápido, uma vez que tomadas de decisões antecipadas durante as etapas de produção de semente diminuem riscos e prejuízos (Marcos Filho, 2005).

Diversos testes vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de determinar a qualidade de sementes, seja pela estimativa do vigor, capacidade germinativa ou pelo percentual de danos mecânicos com o máximo de precisão e rapidez. Dentre eles, estão os testes classificados como rápidos, os testes de tetrazólio, de condutividade elétrica, de pH do exsudato (fenolftaleína), o verde rápido, da tintura de iodo, entre outros.

AOSA (1983) considera uma tarefa difícil avaliar a precisão dos resultados do teste de vigor, pois, além da necessidade de padronização da metodologia e interpretação dos resultados para possibilitar a comparação entre resultados obtidos por diferentes analistas e laboratórios, esses testes devem preencher outras características, como: relação com emergência em campo, rapidez, objetividade, simplicidade, baixo custo e reprodutibilidade.

Assim, o conhecimento da qualidade de um lote de sementes depende da disponibilidade de metodologias precisas, que levem a obtenção de resultados confiáveis (McDonald, 1998). Desta forma, o emprego de testes rápidos torna-se uma ferramenta imprescindível para a avaliação da qualidade fisiológica de um lote de sementes, pois agiliza as decisões quanto ao manejo dos lotes durante as etapas de pré e de pós-colheita.

Dentre os vários procedimentos utilizados na determinação do vigor, uma das alternativas seria submeter as sementes à medição da atividade respiratória em condição de laboratório. A respiração é a oxidação completa de compostos de carbono a CO₂ e água, através de uma série de reações, usando oxigênio como receptor final de elétrons. A energia é liberada e

conservada na forma de ATP (Taiz & Zeiger, 2009). Os substratos respiratórios podem ser carboidratos como amido, sacarose, frutose, glicose e outros açúcares; lipídios, principalmente os triglicerídeos; ácidos orgânicos e proteínas (Marengo & Lopes, 2007).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos determinar a atividade respiratória de sementes de soja como método alternativo na diferenciação de vigor e relacionar a compatibilidade dos seus resultados com outros testes de determinação da qualidade fisiológica de sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Sementes e em casa de vegetação do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pelotas. Utilizaram-se sementes de soja cultivar Taura, obtidos junto no centro de pesquisa Agropecuária de Clima Temperado -CPACT - EMBRAPA.

Foi selecionado um lote com alta qualidade fisiológica e submetido a condições adversas de temperatura e umidade para a obtenção de diferentes níveis de vigor. As condições adversas foram temperatura de 42°C e umidade relativa de 100%, por períodos de seis a 96 horas. Com os níveis de vigor obtidos foi dividido em quatro porções que foi constituído as repetições. Os lotes foram secos para uniformizar a umidade das sementes.

Com o objetivo de caracterizar a qualidade fisiológica dos lotes e determinar a atividade respiratória, relacionando esta com outros testes de vigor, os lotes foram submetidos aos seguintes testes padrão: germinação, primeira contagem da germinação, condutividade elétrica, emergência de plântulas em campo, índice de velocidade de emergência, comprimento da parte aérea e da raiz, massa fresca da parte aérea e da raiz, massa seca da parte aérea e da raiz e massa fresca e seca total das plântulas. Os testes de viabilidade, vigor e atividade respiratória das sementes foram conduzidos em cada lote, conforme descritos a seguir:

Teste de germinação (G) - realizado com quatro repetições de 200 (quatro subamostras de 50) totalizando 800 sementes por lote de soja. As sementes foram distribuídas em papel toalha tipo germitest, umedecido com

quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco e mantido em germinador à temperatura de 25°C, com avaliação no oitavo dia após a semeadura. As avaliações seguiram as RAS (Brasil, 2009) e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais para cada lote;

Primeira contagem da germinação (PC) - teste desenvolvido juntamente com o teste de germinação. Constou do registro da porcentagem de plântulas normais no quinto dia após a instalação do teste nos lotes de soja;

Condutividade elétrica (CE) - com quatro repetições de 50 sementes da fração semente pura, totalizando 200 sementes por lote de soja. As amostras foram pesadas em uma balança de precisão. A seguir, as sementes foram colocadas para embeber em um copo plástico, contendo 75 mL de água deionizada, agitadas levemente para que todas fossem completamente submersas e depois mantidas em germinador a temperatura de 25°C, após três e 24 horas de embebição. Foram realizadas as leituras da CE em condutivímetro modelo Digimed CD-21 e os resultados expressos em $\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$ de semente em função da massa inicial das sementes utilizadas (AOSA, 1983);

Emergência de plântulas em campo (EC) – foram utilizadas, quatro subamostras de 50 sementes de soja por lote, totalizando 200 sementes, semeadas em sulcos de dois metros de comprimento e cinco centímetro de profundidade. A seguir foram cobertas com fina camada de terra e a contagem das plântulas emergidas foi feita aos 21 dias após a semeadura;

Índice de velocidade de emergência (IVE) – foi realizado diariamente a contagem do número de plântulas emergidas junto com o teste de emergência de plântulas em campo e o índice de velocidade de emergência calculado segundo Maguire (1962) descrito por Nakagawa (1999);

Comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz (CR) das plântulas – Avaliou-se o comprimento médio da parte aérea e da raiz das plântulas normais obtidas a partir da semeadura de quatro repetições de 10 sementes. Os rolos de papel contendo as sementes permaneceram em câmara de germinação por sete dias, quando então se avaliou o comprimento das plântulas com o auxílio de uma régua milimetrada. O valor do CPA e CR foram

divididos pelo número de plântulas e os resultados expressos em mm plântula⁻¹, conforme descrito por Nakagawa (1999);

Massa fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR) das plântulas – depois de avaliado o comprimento da parte aérea e da raiz, estas mesmas plantas foram pesadas em balança de precisão, obtendo-se a massa fresca da parte aérea e da raiz e o resultado expresso em mg plântula⁻¹;

Massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) das plântulas – as mesmas 10 plântulas coletadas de cada repetição foram colocadas em estufa de ventilação forçada a $70 \pm 2^\circ\text{C}$ até massa constante, aferindo-se a mesma por gravimetria e o resultado expresso em mg plântula⁻¹;

Atividade respiratória (AR) - a liberação de CO_2 pelas sementes foi medida pelo aparelho de Pettenkofer, o qual é constituído por quatro frascos lavadores de gases, sendo que dois contém hidróxido de sódio (NaOH) a 25%, que tem por finalidade reter o CO_2 do ar ambiente; um frasco destinado para armazenamento das sementes em estudo isento de CO_2 do ar ambiente e um outro contendo hidróxido de bário $\text{Ba}(\text{OH})_2$ a 25%, o qual reage com o CO_2 proveniente da atividade respiratória das sementes, resultando em carbonato de bário (BaCO_3). Os frascos são interligados por uma mangueira de silicone acoplada a uma trompa aspiradora de ar. O fluxo de ar é regulado por uma torneira, permitindo o controle de sua velocidade por meio da observação de bolhas formadas nos frascos.

As sementes dos diferentes lotes (100g) foram colocadas no frasco de armazenamento por 60 minutos à temperatura de 25°C . Após o período de permanência no aparelho foram coletadas cinco alíquotas de 10 mL da solução de BaCO_3 em erlenmeyer onde cada uma, após receber duas gotas do reagente fenolftaleína, foi submetida à titulação com ácido clorídrico (HCl) 0,1N em bureta de 50ml. No ponto de viragem, foi registrado o volume de HCl gasto em cada alíquota. Esse volume, que está diretamente relacionado com a quantidade de CO_2 fixado pela solução de $\text{Ba}(\text{OH})_2$, é utilizado no cálculo da atividade respiratória das sementes, sendo o CO_2 fixado proveniente do processo de respiração. No entanto, deve ser ressaltado que a quantidade calculada refere-se ao conteúdo de CO_2 presente na alíquota titulada.

A metodologia para a medição da atividade respiratória de sementes foi descrita por Mendes (2008), com modificações.

O cálculo da atividade respiratória foi realizado com base na seguinte equação: $N \times D \times 22$ (Müller, 1964), onde: N = normalidade do ácido usado (HCl 0,1N); D = diferença entre o volume de HCl gasto na Titulação da Prova em Branco e o volume de HCl gasto na Titulação da Amostra; 22 = normalidade do CO₂. O resultado foi expresso em quantidade de dióxido de carbono liberado por grama de semente, por hora ($\mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados relativos às variáveis mensuradas foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando-se o software SASM-Agri (Canteri et al, 2001). Os dados obtidos nos testes de germinação, primeira contagem da germinação e emergência em campo foram transformados em $\arcsen \sqrt{x/100}$. Foi efetuada correlação simples entre os testes de vigor e a respiração das sementes com a emergência a campo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes dos cinco lotes tiveram teores de água semelhante. Este é um aspecto importante sobre os testes, uma vez que a uniformização do teor de água das sementes dos diferentes lotes é fundamental para a padronização das avaliações e obtenção de resultados consistentes (Loeffler et al., 1988; Vieira & Krzyzanowski, 1999).

O teste de primeira contagem de germinação, geralmente é utilizado como um teste de vigor, devido à sua simplicidade e por ser conduzido juntamente com o teste de germinação. A velocidade de germinação pode ser utilizada para identificar cultivares com emergência mais rápida em campo ou em estufa, minimizando assim as condições adversas que ocorrem durante a germinação e estabelecimento de plântulas (Steiner et al., 2009).

Verificou-se que os lotes de soja da cv. Taura, nos teste de germinação, primeira contagem da germinação e condutividade elétrica (Tabela 1) mostrou o lote 5 como o de menor qualidade fisiológica, diferindo estatisticamente dos demais. Embora, os lotes 3 e 4 sejam superiores em qualidade fisiológica que o lote 5, os três lotes estão abaixo do padrão mínimo para comercialização (Brasil, 2005). Loeffler et al., (1988) e Dias & Marcos Filho (1996), verificaram

que períodos mais curtos de embebição podem ser utilizados para a identificação de lotes com diferenças de vigor mais acentuadas.

Tabela 1 – Germinação (G), primeira contagem da germinação (PC) e condutividade elétrica (CE), três e 24 horas de embebição, em cinco lotes de sementes de soja cv. Taura.

Lotes	G (%)	PC (%)	CE ($\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$)	
			3h	24h
1	98 a*	98 a	45 c	594 d
2	90 ab	82 ab	47 c	656 cd
3	76 bc	74 b	48 c	737 bc
4	76 c	10 c	71 b	789 ab
5	46 d	0 c	94 a	847 a
CV (%)	8,87	11,81	9,59	6,07

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

Quando houver maior incorporação de suprimentos de reserva pelo eixo embrionário e maior capacidade de transformação destes nutrientes, haverá uma taxa muito alta de crescimento de plântulas, conseqüentemente as sementes que originaram estas plântulas são mais vigorosas (Dan et al., 1987).

De maneira semelhante ao teste de germinação, o teste de comprimento de parte aérea e de raiz (Tabela 2) permitiram classificar os lotes de melhor desempenho (lotes 1 e 2) e o de pior desempenho (lote 5). Vanzolini et al. (2007), verificaram que em sementes de soja, o teste de comprimento da raiz principal mostrou-se sensível para separação de lotes em níveis de vigor.

Tabela 2 - Comprimento da parte aérea (CPA) e raiz (CR), em cinco lotes de sementes de soja cv. Taura

Lotes	CPA (mm plântula ⁻¹)	CR (mm plântula ⁻¹)
1	48 a*	60 a
2	42 a	56 a
3	32 b	32 b
4	21 c	26 b
5	11 d	12 c
CV (%)	14,13	13,23

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

Na tabela 3 estão apresentados os resultados dos testes de massa fresca da parte aérea da raiz e total. Observou-se que os resultados foram

semelhantes aos outros testes anteriores como comprimento de parte aérea e de raiz, germinação, primeira contagem da germinação e condutividade elétrica, evidenciando a superioridade do lote 1 e a inferioridade da qualidade do lote 5.

Tabela 3 – Massa fresca da parte aérea (MFPA) e raiz (MFR), e massa fresca total (MFT) de cinco lotes de sementes de soja cv. Taura.

Lotes	MFPA (mg plântula ⁻¹)	MFR (mg plântula ⁻¹)	MFT (mg plântula ⁻¹)
1	5,8 a	0,8 a	6,6 a
2	4,4 b	0,7 a	5,1 b
3	2,4 c	0,3 b	2,7 c
4	1,9 c	0,2 bc	2,2 c
5	1,0 d	0,1 c	1,2 d
CV (%)	11,69	17,78	11,48

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

A massa seca do sistema de raízes e da parte aérea (Tabela 4) diminuiu expressivamente com a diminuição da germinação dos lotes. Segundo Andreotti et al. (2001) uma maior produção de massa seca significa maior produtividade.

Tabela 4 – Massa seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) e massa seca total de cinco lotes de sementes de soja cv. Taura.

Lotes	MSPA (mg plântula ⁻¹)	MSR (mg plântula ⁻¹)	MST (mg plântula ⁻¹)
1	1,2 a*	0,06 a	1,2 a
2	0,9 b	0,05 a	1,0 b
3	0,6 c	0,03 b	0,6 c
4	0,1 d	0,01 c	0,1 d
5	0,1 d	0,01 c	0,07 d
CV (%)	17,78	20,70	14,61

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

De maneira geral, os resultados dos testes de vigor apresentaram a mesma tendência dos resultados do teste de germinação. Verificou-se que a qualidade foi decrescente, do lote 1 para o 2 e assim por diante até o lote 5 o de qualidade inferior.

Houve aumento gradativo nos valores da respiração com a diminuição do vigor e da germinação dos lotes (Tabela 5). A primeira atividade metabólica das sementes, concomitante á reidratação, é a respiração (Bewley e Black, 1994). Mas esta atividade é influenciada por diversos fatores dentre eles a permeabilidade das membranas (Popinigis, 1977). O que esta de acordo com os resultados encontrados, onde o lote 1 que apresentou melhor qualidade fisiológica, evidenciado no teste de condutividade elétrica (Tabela 2), o qual apresentou menor lixiaviação de eletrólitos e, com isso melhor qualidade, demonstrando melhor organização do sistema de membranas.

É importante ressaltar que a deterioração das sementes, diminui o vigor das mesmas e, portanto, resulta em sementes de menor qualidade fisiológica. No entanto, a deterioração ocorre de forma gradativa, manifestando nas sementes uma seqüência de eventos de origem bioquímica ou fisiológica, tais como danificação aos sistemas de permeabilidade das membranas, o que figura entre os primeiros eventos da deterioração e tem fortes relações com a taxa respiratória dos tecidos, mudanças na atividade enzimática, redução de tecidos de reserva, queda na velocidade e na capacidade de germinação e diminuição no crescimento de plântulas normais (Delouche & Baskin, 1973). Portanto, com o aumento gradativo da deterioração das sementes de soja, diminuiu o vigor e aumentou a atividade respiratória.

Tabela 5 – Germinação (G), emergência em campo (EC) e índice de velocidade de emergência (IVE) e atividade respiratória (AR) de cinco lotes de sementes de soja cv. Taura.

Lotes	G (%)	EC (%)	IVE (%)	AR ($\mu\text{g CO}_2 \text{ g semente h}^{-1}$)
1	98 a*	98 a	1,1 a	0,4 c
2	90 ab	96 a	1,0 b	1,4 c
3	76 bc	82 b	0,8 c	4,6 b
4	76 c	58 c	0,5 d	6,4 ab
5	46 d	46 d	0,3 e	7,8 a
CV (%)	8,87	2,54	4,06	18,13

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

A atividade respiratória dos lotes foi maior quanto menor o vigor, concordando com os testes estudados (germinação, primeira contagem de germinação, condutividade elétrica, comprimento de parte aérea e raiz, massa seca de parte aérea e raiz). Mendes et al. (2009) avaliando a atividade

respiratória de sementes de soja cultivar A 8000 como método alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes, evidenciaram relação com testes de qualidade fisiológica.

Diversos testes de vigor têm sido idealizados procurando avaliar e correlacionar com precisão o comportamento de lotes de sementes em laboratório e no campo, como o teste de frio para milho (Cícero & Vieira, 1994), o de envelhecimento acelerado para soja (Vieira, 1994) e o de condutividade elétrica para ervilha (Caliari & Marcos Filho, 1990).

A utilização da correlação linear para definir a eficiência de um teste de vigor é defendida por Marcos Filho (1999a), ao destacar que, dentre os critérios de avaliação da confiabilidade de um determinado teste para avaliação da qualidade de sementes, a correlação desse teste com emergência em campo é um dos mais adotados. Esse teste é considerado o melhor indicativo para inferir sobre o vigor de lotes de sementes, pois na sua execução devem ser utilizadas condições que simulem aquelas que as sementes estarão sujeitas por ocasião da semeadura em campo (Silveira et al., 2002).

A análise da correlação entre os resultados dos testes de vigor em laboratório e de avaliação da viabilidade com a emergência das plântulas em campo (Tabela 6) sugerem que os testes de germinação, primeira contagem da germinação, condutividade elétrica, comprimento da parte aérea e raiz, massa fresca e seca da parte aérea e da raiz e total, índice de velocidade de emergência e respiração correlacionaram-se de forma altamente significativamente (1%) com a emergência das plântulas em campo. Este resultado permite inferir que o teste de respiração de sementes possui potencial para ser utilizado como indicador de viabilidade e de vigor de um lote de sementes de soja

As correlações foram positivas para o teste de condutividade elétrica, Andrade et al. (1995), Lima et al. (1993) e Torres et al. (1998) obtiveram resultados semelhantes trabalhando com diferentes lotes de cenoura, cebola e maxixe, respectivamente. Os demais testes se correlacionaram negativamente em relação à respiração, ou seja, quanto menor a atividade respiratória maior a qualidade.

Verificou-se, na tabela 6, que houve correlação significativa ($r=-0,93$) entre o teste de respiração e o teste de emergência em campo. O que sugere que este teste é eficiente para detectar diferenças na qualidade fisiológica de lotes de sementes de soja.

Tabela 6 – Coeficiente de correlação entre as variáveis analisadas nos testes de avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja cv. Taura¹

Testes	PC	G	CPA	CR	MFPA	MSPA	MFR	MSR	MFT	MST	C_3H	C_24H	EC	IVE	R
PC	1														
G	0,81**	1													
CPA	0,92**	0,85**	1												
CR	0,87**	0,85**	0,94**	1											
MFPA	0,83**	0,81**	0,90**	0,94**	1										
MSPA	0,93**	0,80**	0,91**	0,90**	0,93**	1									
MFR	0,86**	0,78**	0,88**	0,94**	0,94**	0,93**	1								
MSR	0,87**	0,75**	0,87**	0,90**	0,92**	0,92**	0,92**	1							
MFT	0,83**	0,81**	0,90**	0,94**	0,99**	0,92**	0,95**	0,91**	1						
MST	0,94**	0,79**	0,92**	0,91**	0,93**	0,99**	0,93**	0,93**	0,93**	1					
C_3H	-0,92**	-0,86**	-0,88**	-0,82**	-0,74**	-0,83**	-0,75**	-0,71**	-0,74**	-0,83**	1				
C_24H	-0,84**	-0,85**	-0,88**	-0,90**	-0,90**	-0,87**	-0,89**	-0,82**	-0,90**	-0,88**	0,78**	1			
EC	0,97**	0,85**	0,95**	0,92**	0,89**	0,93**	0,91**	0,90**	0,89**	0,94**	-0,91**	-0,87**	1		
IVE	0,96**	0,86**	0,96**	0,94**	0,92**	0,94**	0,93**	0,91**	0,92**	0,95**	-0,90**	-0,90**	0,99**	1	
R	-0,89**	-0,81**	-0,91**	-0,96**	-0,93**	-0,92**	-0,94**	-0,91**	-0,93**	-0,93**	0,84**	0,84**	-0,93**	-0,94**	1

¹PC = primeira contagem da germinação; G = germinação; CPA = comprimento da parte aérea; CR = comprimento da raiz; MFPA = matéria fresca da parte aérea; MSPA = matéria seca da parte aérea; MFR = matéria fresca da raiz; MSR = matéria seca raiz; MFT = matéria fresca total; MST = matéria seca total; C_3H = condutividade elétrica 3 horas; C_24H = condutividade elétrica 24 horas; EC = emergência em campo; IVE = índice de velocidade de emergência; R= respiração; ^{ns} = não significativo; ** = significativos a 1% de probabilidade; * = significativo a 5%, pelo teste t.

CONCLUSÕES

Lotes de baixo vigor apresentam maior atividade respiratória que de alto vigor, o que permite classificar os lotes de soja cv. Taura em diferentes níveis de qualidade, demonstrando que o método de Pettenkofer é eficiente, rápido e de baixo custo.

CAPÍTULO 2

ATIVIDADE RESPIRATÓRIA EM SEMENTES DE TRIGO COMO MÉTODO PARA DIFERENCIAÇÃO DE LOTES

RESUMO - Novos métodos na avaliação da qualidade fisiológica são uma necessidade em programas de controle de qualidade de sementes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a correlação da atividade respiratória de sementes de trigo com outros testes de viabilidade e de vigor. Foram realizados os seguintes testes: grau de umidade, germinação, primeira contagem da germinação, condutividade elétrica, emergência de plântulas, comprimento de parte aérea e raiz, massa fresca e seca da parte aérea e da raiz e total e atividade respiratória. Os resultados dos testes e da atividade respiratória das sementes de trigo permitiram a classificação dos lotes em diferentes níveis de qualidade fisiológica.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L., respiração, viabilidade e vigor.

ABSTRACT - New methods to evaluate the physiological quality programs are a need for quality control of seeds. The aim of this study was to evaluate the correlation of breathing activity with other tests of viability and vitality. The following tests have been conducted: moisture content, germination, first count

germination, electrical conductivity, seedling emergence, length of shoot and root fresh and dry weight of shoot and root and total breathing activity. The test results and breathing activity of wheat seeds allowed the classification of the lots at different levels of vitality.

Keywords: *Triticum aestivum* L., respiration, viability and vigor.

INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma gramínea cultivada em todo mundo, segunda maior cultura de cereais, sendo de grande importância para a alimentação humana e animal. No Brasil a área cultivada é de 2,43 milhões de hectares, onde se destacam Rio Grande do Sul e Paraná. A taxa de utilização de sementes de trigo é de 72% (Anuário ABASEM, 2010).

O uso de sementes de baixa qualidade e/ou o manejo inadequado prejudica a germinação e dificulta a emergência das plântulas, reduzindo o estande de plantas, provocando variações no perfilhamento, desuniformidade de maturação e, por conseqüência, redução na quantidade e qualidade da produção. Estima-se que 10% das lavouras são replantadas devido ao uso de sementes de baixa qualidade (Peske, 2000).

O termo “qualidade das sementes” envolve aspectos físicos, fisiológicos e sanitários que, avaliados de maneira integrada, propiciam o conhecimento do valor real e do potencial de utilização de um lote de sementes. Para avaliar a qualidade fisiológica, usam-se testes de germinação e vigor (Marcos Filho, 2005).

O teste de germinação é útil, mas apresenta limitações por fornecer resultados que superestimam o potencial fisiológico das sementes, devido ao fato de ser realizado em condições favoráveis e ótimas para a espécie, não refletindo o comportamento das sementes no campo. Além desse aspecto, esse teste não detecta estágios de deterioração das sementes (França-Neto et al., 1986). Portanto, é questionada a validade do mesmo para prever o comportamento das sementes no campo, onde as condições ideais do ambiente dificilmente ocorrem (Byrum e Copeland, 1995).

Outro aspecto a ser considerado no teste de germinação é o período para sua realização, parâmetro oficial utilizado para avaliar a qualidade fisiológica das sementes, requer de sete a 28 dias para a obtenção dos resultados, para a maioria das espécies, período considerado longo para atender os interesses comerciais dos produtores de sementes. Assim, a necessidade do surgimento de métodos rápidos para estimar a viabilidade de sementes é reconhecida por instituições de pesquisa do mundo inteiro. A rapidez na avaliação possibilita o descarte de lotes de semente com qualidade inadequada, na recepção da unidade de beneficiamento de sementes, com conseqüente economia dos custos do provável processamento desnecessário (Marcos Filho, 1999a).

Portanto, este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência e rapidez do método de Pettenkofer na determinação da atividade respiratória para diferenciar a qualidade fisiológica de lotes de sementes de trigo.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Sementes e em casa de vegetação do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pelotas. Utilizaram-se sementes de trigo cultivar CD 115, obtidos junto no centro de pesquisa Agropecuária de Clima Temperado -CPACT - EMBRAPA.

Foi selecionado um lote com alta qualidade fisiológica e submetido a condições adversas de temperatura e umidade para a obtenção de diferentes níveis de vigor. As condições adversas foram temperatura de 42°C e umidade relativa de 100%, por períodos de seis a 96 horas. Com os níveis de vigor obtidos foi dividido em quatro porções que foi constituído as repetições. Os lotes foram secos para uniformizar a umidade das sementes.

Com o objetivo de caracterizar a qualidade fisiológica dos lotes e determinar a atividade respiratória, relacionando esta com outros testes de vigor, os lotes foram submetidos aos seguintes testes padrão: germinação, primeira contagem da germinação, condutividade elétrica, emergência de plântulas em campo, índice de velocidade de emergência, comprimento da parte aérea e da raiz, massa fresca da parte aérea e da raiz, massa seca da parte aérea e da raiz e massa fresca e seca total das plântulas. Os testes de

viabilidade, vigor e atividade respiratória das sementes foram conduzidos em cada lote, conforme descritos a seguir:

Teste de germinação (G) - realizado com quatro repetições de 200 (quatro subamostras de 50) totalizando 800 sementes por lote de trigo. As sementes foram distribuídas em papel toalha tipo germitest, umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco e mantido em germinador à temperatura de 25°C, com avaliação no oitavo dia após a semeadura. As avaliações seguiram as RAS (Brasil, 2009) e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais para cada lote;

Primeira contagem da germinação (PC) - teste desenvolvido juntamente com o teste de germinação. Constou do registro da porcentagem de plântulas normais no quarto dia após a instalação do teste nos lotes de trigo;

Condutividade elétrica (CE) - com quatro repetições de 50 sementes da fração semente pura, totalizando 200 sementes por lote de trigo. As amostras foram pesadas em uma balança de precisão. A seguir, as sementes foram colocadas para embeber em um copo plástico, contendo 75 mL de água deionizada, agitadas levemente para que todas fossem completamente submersas e depois mantidas em germinador a temperatura de 25°C, até completar três e 24 horas. A cada período foram feitas a leitura da CE da água de embebição em condutímetro modelo Digimed CD-21 e os resultados expressos em $\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$ de semente em função da massa inicial das sementes utilizadas (AOSA, 1983);

Emergência de plântulas em campo (EC) – foram utilizadas, quatro subamostras de 50 sementes de trigo por lote, totalizando 200 sementes, semeadas em sulcos de dois metros de comprimento e cinco centímetros de profundidade. A seguir foram cobertas com fina camada de terra e a contagem das plântulas emergidas foi feita aos 21 dias após a semeadura;

Índice de velocidade de emergência (IVE) – foi realizado diariamente a contagem do número de plântulas emergidas junto com o teste de emergência de plântulas em campo e o índice de velocidade de emergência calculado segundo Maguire (1962) descrito por Nakagawa (1999);

Comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz (CR) das plântulas – Avaliou-se o comprimento médio da parte aérea e da raiz das plântulas

normais obtidas a partir da sementeira de quatro repetições de 10 sementes. Os rolos de papel contendo as sementes permaneceram em câmara de germinação por sete dias, quando então se avaliou o comprimento das plântulas com o auxílio de uma régua milimetrada. O valor do CPA e CR foram divididos pelo número de plântulas e os resultados expressos em mm plântula⁻¹, conforme descrito por Nakagawa (1999);

Massa fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR) das plântulas – depois de avaliado o comprimento da parte aérea e da raiz, estas mesmas plantas foram pesadas em balança de precisão, obtendo-se a massa fresca da parte aérea e da raiz e o resultado expresso em mg plântula⁻¹;

Massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) das plântulas – as mesmas 10 plântulas coletadas de cada repetição foram colocadas em estufa de ventilação forçada a $70 \pm 2^\circ\text{C}$ até massa constante, aferindo-se a mesma por gravimétrica e o resultado expresso em mg plântula⁻¹;

Atividade respiratória (AR) - a liberação de CO_2 pelas sementes foi medida pelo aparelho de Pettekofer, o qual é constituído por quatro frascos lavadores de gases, sendo que dois contêm hidróxido de sódio (NaOH) a 25%, que tem por finalidade reter o CO_2 do ar ambiente; um frasco destinado para armazenamento das sementes em estudo isento de CO_2 do ar ambiente e um outro contendo hidróxido de bário Ba(OH)_2 a 25%, o qual reage com o CO_2 proveniente da atividade respiratória das sementes, resultando em carbonato de bário (BaCO_3). Os frascos são interligados por uma mangueira de silicone acoplada a uma trompa aspiradora de ar. O fluxo de ar é regulado por uma torneira, permitindo o controle de sua velocidade por meio da observação de bolhas formadas nos frascos.

As sementes dos diferentes lotes (100g) foram colocadas no frasco de armazenamento por 60 minutos à temperatura de 25°C . Após o período de permanência no aparelho foram coletadas cinco alíquotas de 10 mL da solução de BaCO_3 em erlenmeyer onde cada uma, após receber duas gotas do reagente fenolftaleína, foi submetida à titulação com ácido clorídrico (HCl) 0,1N em bureta de 50ml. No ponto de viragem, foi registrado o volume de HCl gasto em cada alíquota. Esse volume, que está diretamente relacionado com a quantidade de CO_2 fixado pela solução de Ba(OH)_2 , é utilizado no cálculo da atividade respiratória das sementes, sendo o CO_2 fixado proveniente do

processo de respiração. No entanto, deve ser ressaltado que a quantidade calculada refere-se ao conteúdo de CO₂ presente na alíquota titulada.

A metodologia para a medição da atividade respiratória de sementes foi descrita por Mendes (2008), com modificações.

O cálculo da atividade respiratória foi realizado com base na seguinte equação: $N \times D \times 22$ (Müller, 1964), onde: N = normalidade do ácido usado (HCl 0,1N); D = diferença entre o volume de HCl gasto na Titulação da Prova em Branco e o volume de HCl gasto na Titulação da Amostra; 22 = normalidade do CO₂. O resultado foi expresso em quantidade de dióxido de carbono liberado por grama de semente, por hora ($\mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados relativos às variáveis mensuradas foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando-se o software SASM-Agri (Canteri et al, 2001). Os dados obtidos nos testes de germinação, primeira contagem da germinação e emergência em campo foram transformados em $\arcsen \sqrt{x/100}$. Foi efetuada correlação simples entre os testes de vigor e a respiração das sementes com a emergência a campo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água inicial das sementes foi semelhante entre os lotes de trigo, garantindo que os testes de avaliação de qualidade foram isentos de possíveis variações de resultados entre os lotes devido ao teor de água. Segundo Marcos Filho (1999a) é conveniente para a comparação de amostras o mesmo grau de umidade.

Na tabela 1 encontram-se os resultados da germinação (G), primeira contagem da germinação (PC) e da condutividade elétrica (CE). A partir da análise de comparação de médias, verificou-se que houve diferença estatística significativa entre os resultados dos testes de germinação e primeira contagem da germinação. No teste de germinação houve a separação em cinco níveis, onde o lote 1 apresentou maior porcentagem de germinação e o lote 5 mostrou menor porcentagem, sendo considerado o de qualidade fisiológica inferior. Embora o lote 5 seja considerado o de menor qualidade os lotes 3 e 4 também

estão abaixo do padrão comercial (Brasil, 2005). No teste de PC, houve diferença estatística, permitindo separar os lotes em quatro níveis. Comportamento semelhante foi observado na G, onde os lotes 1 e 2 obtiveram maior porcentagem de plântulas normais, enquanto o lote 5 foi considerado o de menor qualidade.

A condutividade elétrica detectou em três horas de embebição das sementes que os lotes 1 e 2 foram os de melhor qualidade, evidenciando menor lixiviação de exsudatos para o meio de embebição. Entretanto, com 24 horas de embebição apenas o lote 2 foi classificado como o de melhor qualidade. Contudo, em ambos os períodos (três e 24 horas) o teste de CE foi sensível para detectar o lote 5 como de qualidade inferior em relação aos demais lotes avaliados.

O teste de condutividade elétrica tem sido reconhecido como eficiente para avaliação do vigor de sementes de várias espécies, mas não para todas as estudadas. Em outros casos, o insucesso desse teste tem sido atribuído à influência do genótipo, associada às características do tegumento, permitindo a liberação mais ou menos acentuada dos lixiviados (Marcos Filho, 2005).

Tabela 1 – Germinação (G), primeira contagem da germinação (PC) e condutividade elétrica (CE), três e 24 horas de embebição, em cinco lotes de sementes de trigo cultivar CD115.

Lotes	G (%)	PC (%)	CE ($\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$)	
			3h	24h
1	94 a*	92 a	10,8 c	21,6 bc
2	89 b	88 a	10,9 c	20,5 c
3	79 c	74 b	11,3 bc	21,1 bc
4	59 d	57 c	12,6 ab	24,2 b
5	40 e	40 d	13,6 a	28,4 a
CV (%)	2,79	3,94	5,99	6,33

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

De acordo com Perry (1977), o comprimento da plântula indica o nível de atividade e a coordenação do metabolismo de germinação, expressando, assim, o vigor da semente. Os resultados do comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz (CR) são apresentados na tabela 2, onde o CPA separa os lotes 1, 2 e 3 em alto vigor, o lote 4 como médio e o lote 5 como baixo vigor. Em contrapartida, para o comprimento da raiz, os lotes 1, 2, 3 e 4 não diferiram estatisticamente, porém o lote 5 também foi o de qualidade inferior. Para

sementes de soja, o teste de comprimento da raiz principal mostrou-se sensível para separação de lotes em níveis de vigor (Vanzolini et al., 2007).

Tabela 2 - Comprimento da parte aérea (CPA) e raiz (CR), em cinco lotes de sementes de trigo cultivar CD115

Lotes	CPA (mm plântula ⁻¹)	CR (mm plântula ⁻¹)
1	95 a	67 a
2	90 ab	72 a
3	81 b	66 a
4	68 c	60 a
5	31 d	34 b
CV (%)	7,43	18,17

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

De acordo com Paula (2007), a avaliação da massa fresca está sujeita a erros muitas vezes não facilmente corrigidos ou controlados. Por exemplo, se uma repetição de um determinado tratamento estiver mais úmida, as plântulas estarão mais hidratadas e, portanto a massa fresca será maior, o que resultará em maior variabilidade dos resultados, comprometendo a precisão do experimento.

A massa fresca da parte aérea (MFPA), da raiz (MFR) e a massa fresca total (MFT), apresentados na tabela 3, evidenciaram a inferioridade da qualidade do lote 5.

Tabela 3 – Massa fresca da parte aérea (MFPA) e raiz (MFR), e massa fresca total (MFT) de cinco lotes de sementes de trigo cv. CD115.

Lotes	MFPA (mg plântula ⁻¹)	MFR (mg plântula ⁻¹)	MFT (mg plântula ⁻¹)
1	0,54 a*	0,28 ab	0,82 a
2	0,68 a	0,17 b	0,9 a
3	0,64 a	0,31 a	1,0 a
4	0,54 a	0,26 ab	0,8 a
5	0,21 b	0,17 b	0,4 b
CV (%)	15,92	23,50	13,61

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

Os resultados da massa seca (Tabela 4) permitiram separar os lotes em níveis de vigor, onde os lotes 1 e 2 foram os de maior qualidade e o lote 5 como o inferior, corroborando com os resultados encontrados nos testes de

germinação, primeira contagem da germinação, condutividade elétrica e comprimento da parte aérea.

Tabela 4 – Massa seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) e massa seca total de cinco lotes de sementes de trigo cultivar CD115.

Lotes	MSPA (mg plântula ⁻¹)	MSR (mg plântula ⁻¹)	MST (mg plântula ⁻¹)
1	0,4 a*	0,04 ab	0,4 a
2	0,15 b	0,06 a	0,2 b
3	0,08 bc	0,04 ab	0,1 c
4	0,06 bc	0,03 bc	0,09 cd
5	0,02 c	0,02 c	0,04 d
CV (%)	34,24	27,3	22,68

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

A avaliação da qualidade fisiológica dos cinco lotes realizada por meio dos testes de emergência a campo (EC) e índice de velocidade de emergência (IVE) na tabela 5, mostraram que estes também permitiram agrupar os lotes em níveis de vigor, onde o lote 1 foi classificado como de alto vigor e o lote 5 de baixo. Da mesma forma o teste da atividade respiratória foi eficiente para separar os lotes em três níveis, sendo o lote 1 como o de alto vigor, o lote 5 como de baixo vigor e os lotes 2, 3 e 4 lotes de médio vigor.

De acordo com Delouche & Baskin (1973), a deterioração ocorre de forma gradativa, manifestando nas sementes uma seqüência de eventos de origem bioquímica ou fisiológica, tais como danificação aos sistemas de permeabilidade das membranas, o que figura entre os primeiros eventos da deterioração e tem fortes relações com a taxa respiratória dos tecidos, mudanças na atividade enzimática, redução de tecidos de reserva, queda na velocidade e na capacidade de germinação e diminuição no crescimento de plântulas normais. Assim, sementes de trigo que foram deterioradas artificialmente apresentaram diminuição do vigor e aumentou a atividade respiratória.

As respostas do teste de atividade respiratória esta de acordo com a hipótese de Amaral e Peske (1984) em que as sementes deterioradas liberam maior quantidade de CO₂ do que as de alta qualidade.

Tabela 5 – Germinação (G), emergência em campo (EC) e índice de velocidade de emergência (IVE) e atividade respiratória (AR) de cinco lotes de sementes de trigo cultivar CD115.

Lotes	G (%)	EC (%)	IVE (%)	AR ($\mu\text{g CO}_2\text{g semente h}^{-1}$)
1	94 a*	96 a	0,9 a	0,3 c
2	89 b	90 b	0,8 b	0,9 bc
3	79 c	86 b	0,6 c	1,1 bc
4	59 d	79 c	0,4 d	1,8 ab
5	40 d	54 d	0,3 e	2,3 a
CV (%)	2,79	2,76	4,27	17,18

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

Em contrapartida, Mendes et al. (2009), observou que quando embebia sementes de arroz e soja em água por uma hora, a atividade respiratória era maior quanto maior o vigor dos lotes. A primeira atividade metabólica, acompanhando a reidratação da semente, é o aumento da respiração que, de valores ínfimos, sobe a níveis bem elevados, pouco tempo após o início da embebição (Popinigis, 1977; Ferreira e Borghetti, 2004).

Observou-se a correlação significativa negativa entre a primeira contagem da germinação, germinação, comprimento da parte aérea e da raiz, matéria fresca da parte aérea e da raiz, matéria seca da parte aérea e da raiz, matéria fresca e seca total, emergência em campo e índice de velocidade de emergência em relação a respiração, ou seja, quando aumenta a respiração diminui estes parâmetros (tabela 6).

Verificando estes mesmos teste em relação a emergência a campo, podemos notar que houve correlação significativa entre o teste de primeira contagem da germinação ($r=0,93$), germinação ($r=0,95$), comprimento da parte aérea ($r=0,96$), comprimento da raiz ($r=0,78$), matéria fresca da parte aérea ($r=0,79$), massa seca da parte aérea ($r=0,71$), massa seca da raiz ($r=0,69$), massa fresca total ($r=0,79$) e massa seca total ($r=0,77$). Resultados semelhantes a estes trabalhando com diferentes lotes de cenoura, cebola e maxixe respectivamente foram encontrados por Andrade et al. (1995), Lima et al. (1993) e Torres et al. (1998). Portanto, estes testes realizados em laboratório foram eficientes para separa os lotes em diferentes níveis de qualidade e se correlacionar com a emergência a campo.

As correlações da condutividade elétrica realizada com três e 24 horas de embebição foram significativas apresentando correlação positiva, quando aumenta a quantidade de lixiviados diminui a qualidade e aumenta a respiração.

As respostas do teste de atividade respiratória foram correlacionadas com os testes de germinação, primeira contagem da germinação, comprimento da parte aérea e raiz, matéria fresca e seca da parte aérea e raiz, condutividade elétrica e emergência em campo. O que revelou que é possível estimar a viabilidade e o vigor das sementes de trigo por meio do teste de atividade respiratória. O único teste que não foi significativo foi o teste de massa fresca da raiz, mas que também não foi em relação ao teste e emergência a campo.

Dentre os critérios de avaliação da confiabilidade de um determinado teste para avaliação da qualidade de sementes a emergência em campo é um dos mais adotados para correlacionar os resultados (Marcos Filho, 1999a),

Tabela 6 – Coeficiente de correlação entre as variáveis analisadas nos testes de avaliação da qualidade fisiológica de sementes de trigo cv. CD115¹

Testes	PC	G	CPA	CR	MFPA	MSPA	MFR	MSR	MFT	MST	C_3H	C_24H	EC	IVE	R
PC	1														
G	0,99**	1													
CPA	0,94**	0,94**	1												
CR	0,73**	0,74**	0,77**	1											
MFPA	0,73**	0,75**	0,84**	0,79**	1										
MSPA	0,79**	0,76**	0,70**	0,52*	0,39 ^{ns}	1									
MFR	0,24 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,37 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,28 ^{ns}	1								
MSR	0,70**	0,70**	0,70**	0,51*	0,63**	0,29 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	1							
MFT	0,69**	0,72**	0,83**	0,78**	0,94**	0,42 ^{ns}	0,63**	0,50*	1						
MST	0,85**	0,82**	0,77**	0,56**	0,46*	0,99**	0,26 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,47*	1					
C_3H	-0,85**	-0,85**	-0,79**	-0,55*	-0,72**	-0,58**	-0,26 ^{ns}	-0,74**	-0,68**	-0,65**	1				
C_24H	-0,83**	-0,85**	-0,81**	-0,71**	-0,75**	-0,45*	-0,31 ^{ns}	-0,76**	-0,73**	-0,54*	0,87**	1			
EC	0,93**	0,95**	0,96**	0,78**	0,79**	0,71**	0,41 ^{ns}	0,69**	0,79**	0,77**	-0,79**	-0,87**	1		
IVE	0,97**	0,97**	0,90**	0,65**	0,66**	0,81**	0,18 ^{ns}	0,70**	0,61**	0,87**	-0,84**	-0,79**	0,90**	1	
R	-0,85**	-0,86**	-0,76**	-0,59**	-0,52**	-0,69**	-0,32 ^{ns}	-0,48*	-0,54*	-0,72**	0,65**	0,73**	-0,81**	-0,84**	1

¹PC = primeira contagem da germinação; G = germinação; CPA = comprimento da parte aérea; CR = comprimento da raiz; MFPA = matéria fresca da parte aérea; MSPA = matéria seca da parte aérea; MFR = matéria fresca da raiz; MSR = matéria seca raiz; MFT = matéria fresca total; MST = matéria seca total; C_3H = condutividade elétrica 3 horas; C_24H = condutividade elétrica 24 horas; EC = emergência em campo; IVE = índice de velocidade de emergência; R = respiração; ^{ns} = não significativo; ** = significativos a 1% de probabilidade; * = significativo a 5%, pelo teste r.

CONCLUSÕES

O teste da atividade respiratória pelo método de Pettenkofer permitiu a classificação dos lotes de sementes de trigo em diferentes níveis de qualidade, sendo um teste promissor para análise de sementes durante todas as etapas de produção.

CAPÍTULO 3

ATIVIDADE RESPIRATÓRIA EM SEMENTES DE GIRASSOL COMO MÉTODO PARA DIFERENCIAÇÃO DE LOTES

RESUMO – O aumento na demanda por sementes oleaginosas de alta qualidade, como o girassol, vem desencadeando um grande interesse em testes rápidos que possibilitem a diferenciação entre lotes. Essa rapidez permite a pronta tomada de decisões durante diferentes etapas da produção de sementes, armazenamento, comercialização e etc. Portanto, este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência e rapidez do método de Pettenkofer na determinação da atividade respiratória para diferenciar o vigor de cinco lotes de sementes de girassol. Para tanto, foram utilizados cinco lotes de sementes de girassol cv. MG2. Além da determinação da atividade respiratória, foram conduzidos os seguintes testes: grau de umidade, germinação, primeira contagem da germinação, condutividade elétrica, emergência de plântulas, comprimento de parte aérea, raiz matéria fresca da parte aérea e raiz, massa seca da parte aérea e raiz e massa fresca e seca total. Os resultados desses testes e a determinação da atividade respiratória das sementes permitiram a classificação dos lotes em diferentes níveis de qualidade fisiológica. O período de permanência das sementes no aparelho de Pettenkofer foi eficiente e rápido para proporcionar a distinção dos lotes, de modo que a determinação da

atividade respiratória constitui procedimento promissor para identificar diferenças na qualidade fisiológica de sementes de girassol.

Palavras-chave: respiração, qualidade fisiológica, viabilidade e vigor.

ABSTRACT – The increased demand for oilseeds of high quality, such as sunflower, has promoted a great interest in faster tests that allow distinguish between batches. It allows for prompt decisions during different stages of seed production, storage, marketing and so on. Therefore, this study aimed to evaluate the efficiency and speed of the Pettenkofer method for the determination of breathing activity to differentiate the effect of different lots of sunflower seeds. In order to do that, five seed lots of sunflower were used in cv. MG2. Besides the determination of breathing activity, the following tests were also conducted: moisture content, germination, first count germination, electrical conductivity, seedling emergence, shoot length, root and total dry mass. The results of these tests and the determination of breathing activity of seeds allowed the classification of the lots at different levels of vitality. The period of permanence of seeds in the apparatus of Pettenkofer was to provide efficient and fast separation of the lots, so that the determination of breathing activity is a promising procedure to identify differences in the physiological quality of sunflower seeds.

Keywords: *Helianthus annuus*, respiration, viability and vigor.

INTRODUÇÃO

O girassol (*Heliantus annuus* L.) planta originária da América do Norte é uma espécie anual herbácea, de cultivo estival, dicotiledônea, pertencente à família Compositae. Cultivado nos cinco continentes, representa grande importância na economia mundial e figura, juntamente com a soja e a canola, como uma das três mais importantes culturas anuais produtoras de óleo do mundo. O cultivo do girassol é uma opção de diversificação nos sistemas de rotação e sucessão de culturas nas regiões produtoras de grãos no Brasil (Leite et al., 2005).

Como acontece em outras culturas, a utilização de sementes de boa qualidade é fundamental para o estabelecimento de populações adequadas em campo. Para uma análise mais completa da qualidade de sementes, há necessidade de se complementar as informações fornecidas pelo teste de germinação com testes de vigor, que possibilitem selecionar os melhores lotes para comercialização e que forneçam, com maior precisão, informações para a semeadura. Os testes rápidos, dentro deste contexto, são importantes para a avaliação da qualidade fisiológica, pois demandam um período de tempo relativamente curto para fornecerem resultados.

Embora os testes de vigor não sejam reconhecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009) por não apresentarem uma metodologia padronizada, principalmente para a cultura do girassol, estes são utilizados pelas empresas produtoras de sementes com inúmeras finalidades, sendo a principal delas a determinação do potencial fisiológico das sementes (Marcos Filho, 1999a). Segundo Vieira et al. (2001), todo programa de controle de qualidade na produção de sementes de uma determinada espécie deve incluir o vigor como característica a ser avaliada sob condições de laboratório, pois, de acordo com McDonald Junior (1980), o vigor das sementes compreende as propriedades que determinam o potencial para uma emergência rápida e uniforme e o desenvolvimento de plântulas normais sob ampla variação de condições de campo.

Diversos testes de vigor têm sido idealizados procurando avaliar e correlacionar com precisão o comportamento de lotes de sementes em laboratório e no campo, como o teste de frio para milho (Cícero & Vieira, 1994), o de envelhecimento acelerado para soja (Vieira, 1994), o de condutividade elétrica para ervilha (Caliari & Marcos Filho, 1990) e o do pH do exsudato (Amaral & Peske, 1984).

O maior interesse atualmente, ao avaliar a qualidade fisiológica da semente, é a obtenção de resultados confiáveis em período de tempo relativamente curto. A rapidez nesta avaliação permite a pronta tomada de decisões durante diferentes etapas da produção de sementes, especialmente entre a fase de maturação e a futura semeadura (Dias & Marcos Filho, 1996).

Portanto, o presente trabalho objetivou avaliar um método alternativo capazes de estimar, com rapidez, o vigor de sementes de girassol, visando

oferecer um teste para utilização em programas de controle de qualidade pelas entidades produtoras de sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Sementes e em casa de vegetação do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pelotas. Utilizaram-se sementes de girassol cultivar MG2, obtidos junto no centro de pesquisa Agropecuária de Clima Temperado - CPACT - EMBRAPA.

Foi selecionado um lote com alta qualidade fisiológica e submetido a condições adversas de temperatura e umidade para a obtenção de diferentes níveis de vigor. As condições adversas foram temperatura de 42°C e umidade relativa de 100%, por períodos de seis a 96 horas. Com os níveis de vigor obtidos foi dividido em quatro porções que foi constituído as repetições. Os lotes foram secos para uniformizar a umidade das sementes.

Com o objetivo de caracterizar a qualidade fisiológica dos lotes e determinar a atividade respiratória, relacionando esta com outros testes de vigor, os lotes foram submetidos aos seguintes testes padrão: grau de umidade, germinação, primeira contagem da germinação, condutividade elétrica, emergência de plântulas em campo, índice de velocidade de emergência, comprimento da parte aérea e da raiz, massa fresca da parte aérea e da raiz, massa seca da parte aérea e da raiz e massa fresca e seca total das plântulas. Os testes de viabilidade, vigor e atividade respiratória das sementes foram conduzidos em cada lote, conforme descritos a seguir:

Teste de germinação (G) - realizado com quatro repetições de 200 (quatro subamostras de 50) totalizando 800 sementes por lote de girassol. As sementes foram distribuídas em papel toalha tipo germitest, umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco e mantido em germinador à temperatura de 25°C, com avaliação no décimo dia após a semeadura. As avaliações seguiram as RAS (Brasil, 2009) e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais para cada lote;

Primeira contagem da germinação (PC) - teste desenvolvido juntamente com o teste de germinação. Constatou-se o registro da porcentagem

de plântulas normais no quarto dia após a instalação do teste nos lotes de girassol;

Condutividade elétrica (CE) - com quatro repetições de 50 sementes da fração semente pura, totalizando 200 sementes por lote de girassol. As amostras foram pesadas em uma balança com precisão de quarto casas decimais. A seguir, as sementes foram colocadas para embeber em um copo plástico, contendo 75 mL de água deionizada, agitadas levemente para que todas fossem completamente submersas e depois mantidas em germinador a temperatura de 25°C, até completar três e 24 horas. A cada período foram feitas a leitura da CE da água de embebição em condutivímetro modelo Digimed CD-21 e os resultados expressos em $\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$ de semente em função da massa inicial das sementes utilizadas (AOSA, 1983);

Emergência de plântulas em campo (EC) – foram utilizadas, quatro subamostras de 50 sementes de girassol por lote, totalizando 200 sementes, semeadas em sulcos de dois metros de comprimento e cinco centímetros de profundidade. A seguir foram cobertas com fina camada de terra e a contagem das plântulas emergidas foi feita aos 21 dias após a semeadura;

Índice de velocidade de emergência (IVE) – foi realizado diariamente a contagem do número de plântulas emergidas junto com o teste de emergência de plântulas em campo e o índice de velocidade de emergência calculado segundo Maguire (1962) descrito por Nakagawa (1999);

Comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz (CR) das plântulas – Avaliou-se o comprimento médio da parte aérea e da raiz das plântulas normais obtidas a partir da semeadura de quatro repetições de 10 sementes. Os rolos de papel contendo as sementes permaneceram em câmara de germinação por sete dias, quando então se avaliou o comprimento das plântulas com o auxílio de uma régua milimetrada. O valor do CPA e CR foram divididos pelo número de plântulas e os resultados expressos em mm plântula^{-1} , conforme descrito por Nakagawa (1999);

Massa fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR) das plântulas – depois de avaliado o comprimento da parte aérea e da raiz, estas mesmas plantas foram pesadas em balança com precisão de quarto casas decimais, obtendo-se a massa fresca da parte aérea e da raiz e o resultado expresso em mg plântula^{-1} ;

Massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) das plântulas – as mesmas 10 plântulas coletadas de cada repetição foram colocadas em estufa de ventilação forçada a $70 \pm 2^\circ\text{C}$ até massa constante, aferindo-se a mesma por gravimetria e o resultado expresso em mg plântula^{-1} ;

Atividade respiratória (AR) - a liberação de CO_2 pelas sementes foi medida pelo aparelho de Pettenkofer, o qual é constituído por quatro frascos lavadores de gases, sendo que dois contêm hidróxido de sódio (NaOH) a 25%, que tem por finalidade reter o CO_2 do ar ambiente; um frasco destinado para armazenamento das sementes em estudo isento de CO_2 do ar ambiente e um outro contendo hidróxido de bário Ba(OH)_2 a 25%, o qual reage com o CO_2 proveniente da atividade respiratória das sementes, resultando em carbonato de bário (BaCO_3). Os frascos são interligados por uma mangueira de silicone acoplada a uma trompa aspiradora de ar. O fluxo de ar é regulado por uma torneira, permitindo o controle de sua velocidade por meio da observação de bolhas formadas nos frascos.

As sementes dos diferentes lotes (100g) foram colocadas no frasco de armazenamento por 60 minutos à temperatura de 25°C . Após o período de permanência no aparelho foram coletadas cinco alíquotas de 10 mL da solução de BaCO_3 em erlenmeyer onde cada uma, após receber duas gotas do reagente fenolftaleína, foi submetida à titulação com ácido clorídrico (HCl) 0,1N em bureta de 50ml. No ponto de viragem, foi registrado o volume de HCl gasto em cada alíquota. Esse volume, que está diretamente relacionado com a quantidade de CO_2 fixado pela solução de Ba(OH)_2 , é utilizado no cálculo da atividade respiratória das sementes, sendo o CO_2 fixado proveniente do processo de respiração. No entanto, deve ser ressaltado que a quantidade calculada refere-se ao conteúdo de CO_2 presente na alíquota titulada.

A metodologia para a medição da atividade respiratória de sementes foi descrita por Mendes (2008), com modificações.

O cálculo da atividade respiratória foi realizado com base na seguinte equação: $N \times D \times 22$ (Müller, 1964), onde: N = normalidade do ácido usado (HCl 0,1N); D = diferença entre o volume de HCl gasto na Titulação da Prova em Branco e o volume de HCl gasto na Titulação da Amostra; 22 = normalidade do CO_2 . O resultado foi expresso em quantidade de dióxido de carbono liberado por grama de semente, por hora ($\mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados relativos às variáveis mensuradas foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando-se o software SASM-Agri (Canteri et al., 2001). Os dados obtidos nos testes de germinação, primeira contagem da germinação e emergência em campo foram transformados em $\arcsen \sqrt{x/100}$. Foi efetuada correlação simples entre os testes de vigor e a respiração das sementes com a emergência a campo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grau de umidade das sementes provenientes de cinco lotes de girassol cultivar MG2 foi semelhante para todos os lotes, não havendo diferença estatística significativa. Isso é importante para a execução dos testes para avaliação da qualidade de sementes, considerando que a uniformidade do grau de umidade é imprescindível para a padronização das avaliações e obtenção de resultados consistentes (Loeffler et al., 1988). Marcos Filho (1994) ressaltou a importância da uniformização do teor de água das sementes, uma vez que, as sementes mais úmidas sofrerão maiores efeitos deletérios do estresse, devido à intensificação da sua atividade metabólica.

Podem-se observar na tabela 1, que os cinco lotes provenientes de sementes de girassol, apresentaram diferenças significativas dividindo-os em alto, médio e baixo, níveis de viabilidade, comparando com o padrão para produção e comercialização de sementes de girassol, ou seja, no mínimo 80%. O lotes 1 e 2 apresentaram alta germinação, enquanto o lote 3 apresentou nível médio de germinação e os lotes 4 e 5 baixa germinação.

Comportamento semelhante foi observado no teste de primeira contagem da germinação, onde os lotes 1 e 2 obtiveram maior porcentagens de plântulas normais, enquanto os lotes 3, 4 e 5 mostraram uma diminuição na velocidade de germinação de plântulas normais. Um dos sintomas mais evidentes do declínio do potencial fisiológico das sementes é a redução da velocidade de germinação (Marcos Filho, 2005).

Ainda na tabela 1, o teste de condutividade elétrica tanto em três como em 24 horas, detectou que o lote 1 é o superior em desempenho, onde

apresentou menor taxa de lixiviação que os outros lotes. O valor da condutividade é função da quantidade de lixiviados na solução de embebição das sementes, a qual está diretamente relacionada com a integridade das membranas celulares (Vieira & Krzynowski, 1990). Os resultados do referido teste estão de acordo com os obtidos nos testes de germinação e primeira contagem da germinação.

Tabela 1 – Germinação (G), primeira contagem da germinação (PC) e condutividade elétrica (CE), três e 24 horas de embebição, em cinco lotes de sementes de girassol cv. MG2.

Lotes	G (%)	PC (%)	CE ($\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$)	
			3h	24h
1	97 a	94 a	88 d	116 d
2	83 b	73 b	97 cd	138 c
3	66 c	54 c	112 c	172 b
4	38 d	30 d	135 b	187 ab
5	29 d	29 d	186 a	198 a
CV(%)	7,26	10,66	7,12	5,74

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

A avaliação da qualidade fisiológica dos cinco lotes de sementes de girassol, realizada por meio dos testes de comprimento da parte aérea e raiz (Tabela 2), massa fresca da parte aérea, raiz e total (Tabela 3) e massa seca parte aérea da raiz e total (Tabela 4) permitiram agrupar os lotes em três níveis de vigor: alto (lotes 1 e 2) médio (lote 3) e baixo vigor (lotes 4 e 5).

Plantas que apresentam os parâmetros de comprimento e massas frescas e secas maiores que outras, para uma mesma espécie, indicam a boa qualidade fisiológica das sementes que as originaram, e são consideradas mais vigorosas (Vieira, 1994).

Tabela 2 - Comprimento da parte aérea (CPA) e de raiz (CR), em cinco lotes de sementes de girassol cv. MG2.

Lotes	CPA (mm plântula ⁻¹)	CR (mm plântula ⁻¹)
1	84 a*	66 a
2	77 a	57 a
3	54 b	35 b
4	39 c	21 c
5	08 d	07 d
CV(%)	9,31	12,99

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela 3 – Massa fresca da parte aérea (MFPA) e de raiz (MFR), e massa fresca total (MFT) de cinco lotes de sementes de girassol cv. MG2.

Lotes	MFPA (mg plântula ⁻¹)	MFR (mg plântula ⁻¹)	MFT (mg plântula ⁻¹)
1	8,3 a *	2,3 a	10,6 a
2	7,4 b	1,9 ab	9,3 b
3	4,8 c	1,4 bc	6,2 c
4	3,1 d	0,9 c	3,9 d
5	1,0 e	0,1 d	1,1 e
CV(%)	6,56	23,51	7,05

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

Ao analisar a massa seca das plantas (Tabela 4), os resultados indicam o comportamento do desenvolvimento inicial e refletem a translocação e acúmulo da matéria seca nas partes das plantas (Vieira, 1994).

Tabela 4 – Massa seca da parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) e massa seca total de cinco lotes de sementes de girassol cv. MG2

Lotes	MSPA (mg plântula ⁻¹)	MSR (mg plântula ⁻¹)	MST (mg plântula ⁻¹)
1	0,4 a*	0,04 a	0,4 a
2	0,3 b	0,03 a	0,3 b
3	0,2 c	0,01 b	0,2 c
4	0,13 d	0,01 b	0,1 d
5	0,1 d	0,003 b	0,07 d
CV(%)	14,37	25,9	14,9

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

Na tabela 5, são apresentados os dados referentes aos testes de germinação, emergência a campo, índice de velocidade de emergência e atividade respiratória. Tais dados expressam informações importantes na identificação da qualidade das sementes estudadas e a sua relação com o

teste de respiração. Esses resultados apresentam a mesma tendência que os demais testes utilizados para expressar o desempenho da qualidade fisiológica e distinguir os lotes em diferentes níveis de vigor. Podemos inferir que os lotes 1 e 2 apresentam alto vigor, o lote 3 como intermediário e os lotes 4 e 5 como de baixo vigor.

Tabela 5 – Germinação (G), emergência em campo (EC) e índice de velocidade de emergência (IVE) e atividade respiratória (AR) de cinco lotes de sementes de girassol cv. MG2.

Lotes	G (%)	EC (%)	IVE (%)	AR ($\mu\text{g CO}_2$ g semente ⁻¹ h ⁻¹)
1	97 a*	90 a	0,7 a	1,2 c
2	83 b	71 b	0,6 b	2,2 c
3	66 c	54 c	0,5 c	5,1 b
4	38 d	32 d	0,2 d	6,6 ab
5	29 d	10 e	0,07 e	8,4 a
CV(%)	7,26	5,38	9,32	16,43

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

Sementes novas, intactas e vigorosas lixiviam menos, face ao maior controle da permeabilidade das membranas celulares e absorvem água mais lentamente, conforme constatado, em ervilha, (Powell & Matthews, 1979) e, em soja (Woodstock & Tao, 1981). Em consequência, terão um menor quociente respiratório devido a uma menor liberação de CO₂. Amaral & Peske (1984), formularam a hipótese de que o gás carbônico seria o principal elemento causador da acidificação do exsudato. Sementes deterioradas absorvem água mais rapidamente e, dentro de certos limites, liberam maior quantidade de CO₂ do que aquelas de alta qualidade, conforme foi observado, em sorgo (Anderson, 1970) e, em soja, (Crispim et al. 1993).

A perda da germinação e do vigor correlacionou com o aumento da atividade respiratória (tabela 6). A condutividade elétrica nos dois períodos testados se correlacionou com o aumento da respiração, este aumento da lixiviação do soluto das sementes foi consequência da deterioração da membrana. A integridade da membrana é muito importante para a função da mesma. A perda de controle sobre a compartimentalização intracelular, com

alteração nas concentrações de metabólitos, resultado da perda de lipídeos da membrana, poderia ser uma causa de perda da viabilidade da semente e aumento da respiração.

Verificou-se a correlação significativa entre os testes primeira contagem da germinação, de germinação, comprimento da parte aérea e da raiz, massa fresca e seca parte aérea, massa seca da parte aérea e da raiz, massa fresca e seca total e condutividade elétrica em relação a emergência das plântulas em campo. Tendência similar foi observada ao analisar a correlação destes testes em relação ao teste de atividade respiratória, ou seja, observa-se uma correlação significativa dos testes de qualidade com o teste de respiração, mostrando-se eficiente para detectar diferenças na viabilidade e qualidade de sementes dos lotes de girassol estudados.

A utilização da correlação linear dos testes de avaliação de qualidade de sementes com o teste de emergência em campo é um dos mais adotados para inferir sobre o vigor de lotes de sementes (Marcos Filho, 1999a; Silveira et al., 2002).

Tabela 6 – Coeficiente de correlação entre as variáveis analisadas nos testes de avaliação da qualidade fisiológica de sementes de girassol cv. MG2¹

Testes	PC	G	CPA	CR	MFPA	MSPA	MFR	MSR	MFT	MST	C_3H	C_24H	EC	IVE	R
PC	1														
G	0,99**	1													
CPA	0,94**	0,94**	1												
CR	0,97**	0,96**	0,95**	1											
MFPA	0,97**	0,96**	0,98**	0,98**	1										
MSPA	0,92**	0,92**	0,88**	0,91**	0,91**	1									
MFR	0,91**	0,91**	0,94**	0,93**	0,93**	0,86**	1								
MSR	0,90**	0,88**	0,90**	0,95**	0,92**	0,89**	0,90**	1							
MFT	0,97**	0,96**	0,98**	0,98**	0,99**	0,91**	0,95**	0,92**	1						
MST	0,94**	0,94**	0,91**	0,93**	0,94**	0,97**	0,90**	0,92**	0,94**	1					
C_3H	-0,88**	-0,87**	-0,95**	-0,88**	-0,92**	-0,81**	-0,88**	-0,79**	-0,92**	-0,84**	1				
C_24H	-0,92**	-0,92**	-0,89**	-0,91**	-0,92**	-0,95**	-0,84**	-0,87**	-0,91**	-0,94**	0,85**	1			
EC	0,98**	0,97**	0,96**	0,96**	0,98**	0,92**	0,92**	0,88**	0,98**	0,94**	-0,93**	-0,93**	1		
IVE	0,97**	0,97**	0,95**	0,95**	0,96**	0,90**	0,91**	0,86**	0,96**	0,92**	-0,93**	-0,91**	0,99**	1	
R	-0,92**	-0,91**	-0,91**	-0,94**	-0,93**	-0,90**	-0,90**	-0,91**	-0,94**	-0,91**	0,86**	0,90**	-0,93**	-0,92**	1

¹PC = primeira contagem da germinação; G = germinação; CPA = comprimento da parte aérea; CR = comprimento da raiz; MFPA = matéria fresca da parte aérea; MSPA = matéria seca da parte aérea; MFR = matéria fresca da raiz; MSR = matéria seca raiz; MFT = matéria fresca total; MST = matéria seca total; C_3H = condutividade elétrica 3 horas; C_24H = condutividade elétrica 24 horas; EC = emergência em campo; IVE = índice de velocidade de emergência; R= respiração; ^{ns} = não significativo; ** = significativos a 1% de probabilidade; * = significativo a 5%, pelo teste r.

CONCLUSÕES

As sementes provenientes dos lotes de baixo vigor apresentam maior atividade respiratória que os de alto vigor.

Os resultados são compatíveis com os de outros testes para determinar a qualidade fisiológica de sementes de girassol;

A determinação da atividade respiratória, pelo método de Pettenkofer, é eficiente, rápida e proporciona a diferenciação do vigor de lotes.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

A avaliação da atividade respiratória pelo método de Pettenkofer permitiu a classificação dos lotes de sementes de soja cv. Taura, trigo cv. CD115 e girassol cv. MG2, em diferentes níveis de qualidade, classificando os lotes em alto, médio e baixo vigor. Sendo um teste promissor para análise de semente durante todas as etapas de produção, pela sua rapidez e eficiência.

A atividade respiratória apresentou a mesma tendência nas três espécies estudadas, onde houve aumento gradativo nos valores da respiração com a diminuição do vigor e da germinação dos lotes.

Os lotes foram envelhecidos artificialmente para obtenção de diferentes lotes, a deterioração natural ou artificial ocorre de forma gradativa resultando uma seqüência de eventos de origem bioquímica e fisiológica, que interferem na permeabilidade das membranas e conseqüentemente na atividade respiratória e no vigor. O que está de acordo com os resultados encontrados para soja, trigo e girassol, a perda da germinação e do vigor se correlacionou com o aumento da atividade respiratória.

Os lotes de sementes de soja e girassol apresentaram valores maiores na atividade respiratória que os lotes de semente de trigo, isto se deve provavelmente a constituição química das sementes de soja e girassol, estas sementes têm como principal substância de reserva os lipídeos. Os Lipídeos apresentam maior instabilidade química, o que provoca maior degradação do que em sementes amiláceas, como o trigo.

Os resultados dos testes estudados se correlacionaram significativamente tanto quando comparados com a emergência a campo

quando com a atividade respiratória. Sendo eficiente e compatível com os de outros testes para determinar a viabilidade e o vigor de sementes.

REFERÊNCIAS

AMARAL, A. S. & PESKE, S. T. pH do exsudato para estimar, em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.6, n.3, p.85-92, 1984.

ANDERSON, J. D. Physiological and biochemical differences in deteriorating barley seed. **Crop Science**, v.10, p.36-39, 1970.

ANDRADE, R. N.; SANTOS, D. S. B.; SANTOS FILHO, B. G.; MELLO, V. D. C. Correlação entre testes de vigor em sementes de cenoura armazenadas por diferentes períodos. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v.1, n.2, p.153-162, 1995.

ANDREOTTI, M; SOUZA, E. C. A; CRUSCIOL, C. A. C. Componentes morfológicos e produção de matéria seca de milho em função da aplicação de calcário e zinco. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v.58, n.2, p.321-327, 2001.

ANUARIO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS – 2010. Pelotas: Editora Becker & Peske, 2010. 82p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSIS (AOSA). **Seed vigour handbook**. The handbook of seed testing. East Lansing, 1983. 88p.

BARROS, A. S. R.; MARCOS FILHO, J. Testes para avaliação rápida do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 288-294, 1997.

BEWLEY, J. D. & BLACK, M. **Seed physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BRASIL. Instrução Normativa nº 24, de 16 de dezembro de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 de dezembro de 2005, nº243, seção I, p.20.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BYRUM, J. R.; COPELAND, L. O. Variability in vigour testing of maize (*Zea mays* L.) seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.23, n.2, p.543-549, 1995.

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. SASM - Agri : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, Recife, v.1, N.2, p.18-24. 2001.

CARVALHO, J. M.; NAKAGAWA, J. 2000. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas. 588p.

CALIARI, M. F.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de ervilha (*Pisum sativum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.12, n.3, p.52-75, 1990.

CALIARI, M.F.; SILVA, W.R. da. Interpretação de dados de testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.239-251, 2001.

CÍCERO, S. M.; VIEIRA, R. D. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.151-164.

CRISPIM, J. E.; MARTINS, J. C.; PIRES, J. C.; ROSOLEM, C. A.; CAVARIANI, C. Determinação da taxa de respiração em sementes de soja pelo método da titulação. Porto Alegre: **Lavoura Arrozeira**, v.46, n.409, p.18-22, 1993.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, v.1, p.427-452, 1973.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Testes de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja (*glycine max (L.) merrill*). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.53, n.1, p 31-42, 1996.

FERNANDES, E. J.; SADER, R. J.; CARVALHO, N. M. Viabilidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgares L.*) estimada pelo pH do exsudato. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília v.9, n.3, p.69-75, 1987.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323p.

FRANÇA-NETO, J. B.; PEREIRA, L. A. G. & COSTA, N.P **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja** Londrina: EMBRAPA-CNP SOJA, 1986. 35p.

HILHORST, H.W.M.; BEWLEY, J.D.; CASTRO, R.D.; SILVA, E.A.A.; et. al. **Curso avançado em fisiologia e tecnologia de sementes**. Lavras: UFLA, 2001. 74p.

KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999 a. p.1.1-1.21.

LEITE, R. M. V. B. C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 641 p.

LIMA, D. **Avaliação da viabilidade e vigor de sementes de cebola (*Allium cepa* L.)**. 1993. 61f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1993.

LOEFFLER, T. M.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v.12, n.1, p.37-53, 1988.

MAESTRI, M.; ALVIM, P. de T; SILVA, M.A.P. **Fisiologia vegetal**; exercícios práticos. Viçosa: UFV, 1998. 91p. (Cadernos didáticos, 20).

MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999 a. p.1.1-1.21.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999b. p.3.1-3.24.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.133 -149.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. 2 ed. Viçosa: UFV, 2007. 469p.

McDONALD JUNIOR, M. B. Vigor test subcommittee report. **News Lett. Assoc. Proceeding of Association of Official Seed Analysts**, Washington, v. 54, n.1, p.37-40, 1980.

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

MENDES, C.R. **Atividade respiratória como método alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes**. 2008. 21p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

MENDES, C. R.; MORAES, D. M.; LIMA, M.G.S.; LOPES, N. F. Respiratory activity for the differentiation of vigor on soybean seeds lots. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, p.171-176, 2009

MÜLLER, L. E. **Manual de laboratório de fisiologia vegetal**. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O. E. A. Turrialba, Costa Rica, 1964. 165p.

MUNIZ, M. F. B.; GONÇALVES, N.; GARCIA, D. C.; KULCZYNSKI, S. M. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de melão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, vol. 26, n. 2, p.144-149, 2004.

NAKAGAWA, J. **Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas**. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FANÇA NETO, J. B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p.1-24.

PAULA, R. C. **Repetibilidade e divergência genética entre matrizes de Pterogyne nitens tul. (Fabaceae – Caesalpinioideae) por caracteres biométricos de frutos e de sementes e parâmetros da qualidade fisiológica de sementes**. 2007. 128p. Tese (Livre-Docência em Silvicultura) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2007.

PERRY, D. A. A vigour test for seeds of barley (*Hordeum vulgares*) based on measurement of plumule growth. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.5. n.1, p. 709-719, 1977.

PESKE, S. T. Qualidade e produtividade. **Seed News**, n.5, p.10, set-out., 2000.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília, AGIPLAN, 1985. 289p

POWELL, A. A.; MATTHEWS, S. The influence of test condition on the imbibition and vigour of seeds. London: **Journal of Experimental Botany**, v.30, p.193-197, 1979.

SILVEIRA, M. A.; VILLELA, F. A.; TILLMANN, M. A. A. Comparação de métodos para avaliação da qualidade fisiológica em sementes de calendula. **Revista Brasileira de Semente**, Londrina, v.24, n.2, p. 24-30, 2002.

STEINER, F.; PINTO JÚNIOR, A. S.; ZOZ, T.; GUIMARÃES, V. F.; DRANSKI, J. A. L.; RHEINHEIMER, A. R. Germinação de sementes de rabanete sob temperaturas adversas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.4, p.430-434, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4a ed. Artmed, Porto Alegre, 820p. 2009.

TILLMANN, M. A.; MIRANDA, D. In: PESKE, S. T.; LUCCA FILHO, O.; BARROS, A. C. A. **Sementes: Fundamentos Científicos e tecnológicos**. Pelotas, 2006. 470p.

TORRES, S. Comparação entre diferentes testes de vigor e a correlação com a emergência no campo de sementes de cebola. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.1, p.65-69, 1998.

VANZOLINI, S.; ARAKI, C. A. S.; SILVA, A. C. T. M.; NAKAGAWA, J. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.29, n.2, p.90-96, 2007.

VIEIRA, R. D.; BITTENCOURT, S. R. M.; PANOBIANCO, M. Vigor: um componente da qualidade de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.11, n.2, p.199, 2001.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Teste de condutividade elétrica**. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p.1-24.

VIEIRA, R. D. **Teste de condutividade elétrica**. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.) Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 103-132.

WOODSTOCK, L. W.; TAO, K. L. J. Prevention imbibitional injury in low vigor soybean embryonic axis by osmotic control of water uptake. **Physiologia Plantarum**, v.51, p.133-139, 1981.