

# RELATO DOS TESTES DE VIGOR DISPONÍVEIS PARA AS GRANDES CULTURAS

*Francisco Carlos Krzyzanowski*<sup>1</sup>

*José de Barros França Neto*<sup>1</sup>

*Ademir Assis Henning*<sup>1</sup>

Através deste relato, o Comitê de Vigor da ABRATES busca colocar ao alcance de todos os tecnologistas de sementes, os testes de vigor correntemente utilizados no Brasil em pesquisa, programas de aferição e eventualmente nos trabalhos de rotina. Assim, procurou-se nos Manuais de Vigor da ISTA e da AOSA complementar as informações quanto às metodologias dos principais testes. Desta forma apresenta-se, de maneira condensada, uma coletânea desses métodos onde se buscou propiciar uma orientação uniforme para os diferentes testes de vigor utilizados.

Não se pretende com este relato editar um Manual de Vigor, mas sim, fornecer um guia básico, aberto a críticas e sugestões, visando seu aperfeiçoamento. Para tanto o Comitê de Vigor conta com a colaboração de todos para aprimorar este trabalho, o qual culminará naturalmente no nosso Manual de Vigor de Sementes.

## MÉTODOS DE VIGOR

### I. ENVELHECIMENTO PRECOCE

#### Introdução

No teste de envelhecimento precoce as sementes são expostas a condições adversas de alta temperatura (40° a 45°C) e umidade relativa (próxima de 100%) por diferentes períodos dependendo da espécie, antes de submetê-las ao teste padrão de germinação (Tabela 1).

O principal fundamento deste teste baseia-se no fato que, sementes de alto vigor produzem plântulas normais no teste de germinação, após estressadas em condições de alta temperatura e umidade relativa.

Nos idos de 1915 Crocker e Groves (citado por Delouche & Baskin, 1973) postularam que a morte da semente em armazenamento era devido a coagulação de proteínas e que o aquecimento oriundo de alta temperatura aceleraria o processo. Eles sugeriram que testes de germinação conduzidos após exposição de semente seca a altas temperaturas (50° - 100°C) por períodos curtos de tempo poderia ser útil para predizer sua longevidade, Helmer et al. (1962), estudando a germinação de sementes de trevo após vários dias de exposição a níveis elevados de umidade relativa (100%) e temperatura (35° - 40°C), observou que os resultados se relacionavam com o vigor das sementes e com a emergência das plântulas sob condição de campo. Eles sugeriram que o envelhecimento precoce poderia ser útil na avaliação do potencial de armazenamento dos lotes de sementes. Nesta linha de trabalho a Universidade Estadual do Mississippi foi a pioneira (Delouche 1965; Delouche et al. 1967; Delouche & Helmer 1967, Rushing 1969).

---

<sup>1</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, Ph.D. Pesquisador da EMBRAPA-CNPSO, Caixa Postal 1061 - 86.001 - Londrina, PR.

**TABELA 1. Sugestões de combinação de temperatura e tempo de exposição para envelhecimento precoce de sementes de diferentes espécies.**

Espécie	Temperatura (°C)	Tempo de Exposição (horas)
Milho ( <i>Zea mays</i> )	42	96
Algodão ( <i>Gossypium hirsutum</i> )		
deslintada a ácido	42	76
deslintada mecanicamente	42	96
Feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	42	72
Amendoim ( <i>Arachis hypogaea</i> )	41	96
Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> )	45	72
* Soja ( <i>Glycine max</i> (L.) Merrill)	41	72
Trigo ( <i>Triticum aestivum</i> )	45	48

FONTE: AOSA (1983) - Seed Vigor Testing Handbook. 1983.

\* Soja - recomendação da EMBRAPA-CNPSO para o Paraná - 41°C por 48 horas.

A metodologia deste teste foi aperfeiçoada ao longo dos anos para as diferentes espécies, culminando na soja com o método de gerbox desenvolvido por McDonald & Phaneendranath (1978) e aprimorado através dos testes de referência de vigor da AOSA (TeKrony 1985).

### Materiais e Equipamentos

O teste de envelhecimento precoce é conduzido utilizando-se caixas gerbox (11 x 11 x 3,5cm) como compartimento individual (Fig. 1), com uma bandeja de tela de ferro galvanizado (Fig. 2) que serve como recipiente para as sementes. Estas caixas são construídas de acordo com orientações descritas por Elliot (1982), traduzidas ao português por Krzyzanowski (Elliot, 1984).

A caixa gerbox deve ser colocada em uma câmara de envelhecimento (encubadeira ou germinador) que assegure um controle de temperatura com precisão de  $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$  em torno do valor calibrado, pois pequenas mudanças na temperatura de envelhecimento afetarão os resultados na germinação (Tomes, 1985 citado em AOSA 1986).

Precauções devem ser tomadas para coletar a água que condensar na parte superior interna da câmara de envelhecimento, evitando que esta venha se depositar na tampa da caixa gerbox externamente. Se este acúmulo de água ocorrer na tampa da gerbox, condensação ocorrerá na parte interna da tampa e por conseguinte as sementes poderão atingir altos níveis de umidade durante o processo de envelhecimento, o que poderá reduzir a germinação e causar excessivo desenvolvimento de fungos. (AOSA, 1986).

### Procedimentos

Após a adição de 40 ml de água no gerbox, a bandeja de tela é colocada dentro da caixa (Fig. 3). A distância entre o nível da água e a bandeja é crítica e deve ser de 2 cm (Fig. 1).

Amostra de sementes contendo pelo menos 200 sementes determinada em base de peso deve ser colocada na bandeja, de maneira formar uma camada única. Quarenta a 45 gramas de semente de soja deve ser pesada dependendo do tamanho da semente da cultivar.

Refinamentos das técnicas, tempo de avaliação, temperatura e interações de umidade (Tao 1979, Marcos Filho 1978, Costa et al., 1989) indicam que o tamanho da semente, seu teor de umidade podem influenciar o resultado. Visando compensar esses efeitos, as amostras dos diferentes lotes devem ser pesadas e não ter suas sementes contadas (p. ex. 200 sementes) antes de serem colocadas para envelhecer. Se possível o teor de umidade dos lotes devem estar em níveis similares antes de se iniciar o teste, entretanto, diferenças de um ou dois por cento ao redor de 13% não devem afetar o resultado (TeKrony, 1985).



Monitorar o teor de umidade das sementes após o envelhecimento é um bom procedimento para averiguar se o teste deve ser refeito, pois na combinação 41°C por 72 horas as sementes de soja atingem teores de umidade entre 30 a 34% (TeKrony, 1985) e na de 41°C por 48 horas a umidade é de 27 a 30% (Krzyzanowski e Miranda, 1990).

Se valores maiores ou menores ocorrerem é porque a semente foi muito ou pouco deteriorada em relação ao que seria desejável.

Após a adição das sementes, as caixas gerbox são fechadas e colocadas para envelhecer. Durante o período de envelhecimento a câmara não pode ser aberta.

Quando transferir as caixas para dentro ou para fora da câmara, as sementes não deverão entrar em contato com a água do fundo da gerbox.

Findo o período de envelhecimento, as sementes serão avaliadas através do teste padrão de germinação estabelecido nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1976), com a ressalva que apenas 200 sementes serão testadas em quatro repetições de 50 sementes cada. As 50 sementes serão colocadas com auxílio de tábua contadora de sementes sobre duas folhas de papel toalha umedecido. O peso do papel toalha umedecido deverá ser duas vezes e meia (2,5) o seu peso seco, ou de forma que ao ser pressionado com os dedos um filme de água se forme envolta deles.

Após colocar uma folha de papel toalha sobre as sementes, os rolos para germinação serão feitos e colocados em pé no germinador com temperatura de 25°C constante durante cinco dias. Após esse período, as sementes que produzirem plântulas normais serão consideradas vigorosas.

Recomenda-se que os resultados do teste de envelhecimento precoce sejam comparados com os da germinação padrão antes do envelhecimento, para se ter uma noção do vigor do lote de semente em relação ao seu potencial de germinação sob condições ideais de temperatura e umidade.

## REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. Seed Vigor Testing Handbook. s.l., 1983. 89p. (Handbook on Seed Testing, 32). (Encarte revisado em 1986).
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Regras para Análise de Sementes. Brasília, DF, 1976. 188p. (Portaria do M.A. nº 532 de 28/07/76. DISEM/DNPV).
- COSTA, N.P.; FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; MIRANDA, Z.F.S. & OLIVEIRA, M.C.N. Padronização de teste de envelhecimento precoce. In: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Londrina, PR. **Resultados de Pesquisa de Soja 1988/89**. Londrina, 1989. p.347-349.
- DELOUCHE, J.C. An accelerated aging technique for predicting relative storability of crimson clover and tall fescue seed lots. **Agron. Abstr.** 40., 1965.
- DELOUCHE, J.C., RUSHING, T.T. & BASKIN, C.C. Predicting the relative storability of crop seed lots. Mississippi. Mississippi State University. State College. 1967. (Seed Technology Laboratory Special Report).
- DELOUCHE, J.C. & HELMER, J.D. Predicting the longevity of alfafa and lettuce seed lots. Proc. South. Agr. Worker's 64 H. Ann. Conf. 72p. 1967.
- DELOUCHE, J.C. & BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Sci. and Technol.**, 1(2):427-452, 1973.
- ELLIOT, B. Construction of seed box for use in the accelerated aging chamber. **AOSA Newsletter**, 56(3):61-64. 1982.
- ELLIOT, B. Construção do recipiente das sementes para uso no teste de envelhecimento precoce. **Informativo ABRATES**. nº 6. p.7. 1984. Original em inglês. Tradução de F.C. Krzyzanowski.



- HELMER, T.D.; DELOUCHE, J.C. & LEINHARD, M. Some indices of vigor and deterioration in seed of crimson clover. **Proc. Assoc. Offic. Seed Anal**, 52:154-161, 1962.
- KRZYZANOWSKI, F.C. & MIRANDA, Z.F.S. Relatório do Comitê de Vigor. **Informativo ABRATES**. 1(1) 7-25. 1990.
- MARCOS FILHO, J.; FONSECA, M.C.B. & MARZOTTI, M.A. Teor de umidade da semente e comportamento da soja no teste de envelhecimento rápido. **Pes. Agropec. Bras.**, 13(3):11-16, 1978.
- McDONALD JR., M.B. & PHANEENDRANATH, B.R. A modified accelerated aging seed vigor test for soybeans. **J. Seed Technol.**, 3(1):27-37. 1978.
- TOMES, L.J. The use for accelerated aging an a vigor test in soybeans. Lexington, University of kentucky. (Tese de Mestrado). Citado por: ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYST - AOSA. **Seed vigor testing handbook**, s.l.p., 1983. 93p.
- TAO, J.K.L. An evaluation of alternative methods of accelerated aging seed vigor tests for soybeans. **J. Seed Technol.**, 3(2):30-40, 1979.
- TEKRONY, D.M. An evaluation of the accelerated aging test for soybeans **AOSA Newsletter.**, 59(1):86-96. 1985.
- RUSHING, T.T. Evaluation of methods for predicting storage potential of tall fescue, crimson clover, sorghym and wheat seed lots. M.S. Thesis. Mississippi State of University. State College. M.S. p.1969.

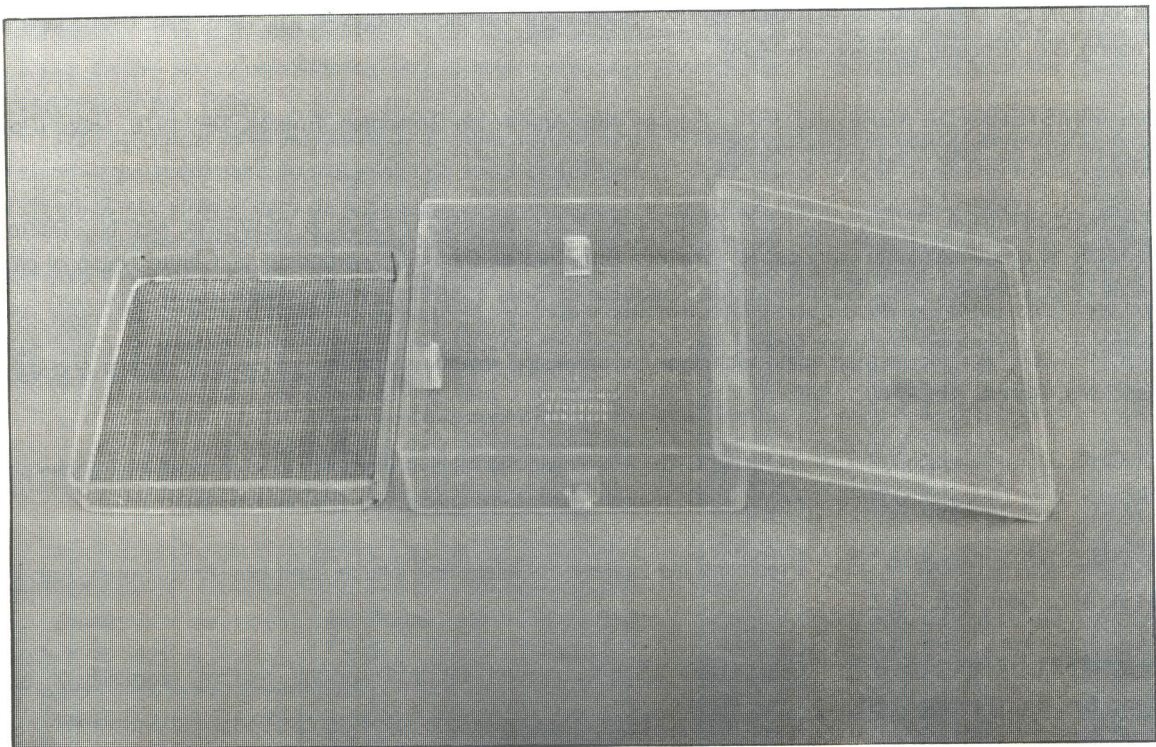


FIG. 1. Caixa de gerbox com tela de ferro galvanizado utilizada no teste de envelhecimento precoce.



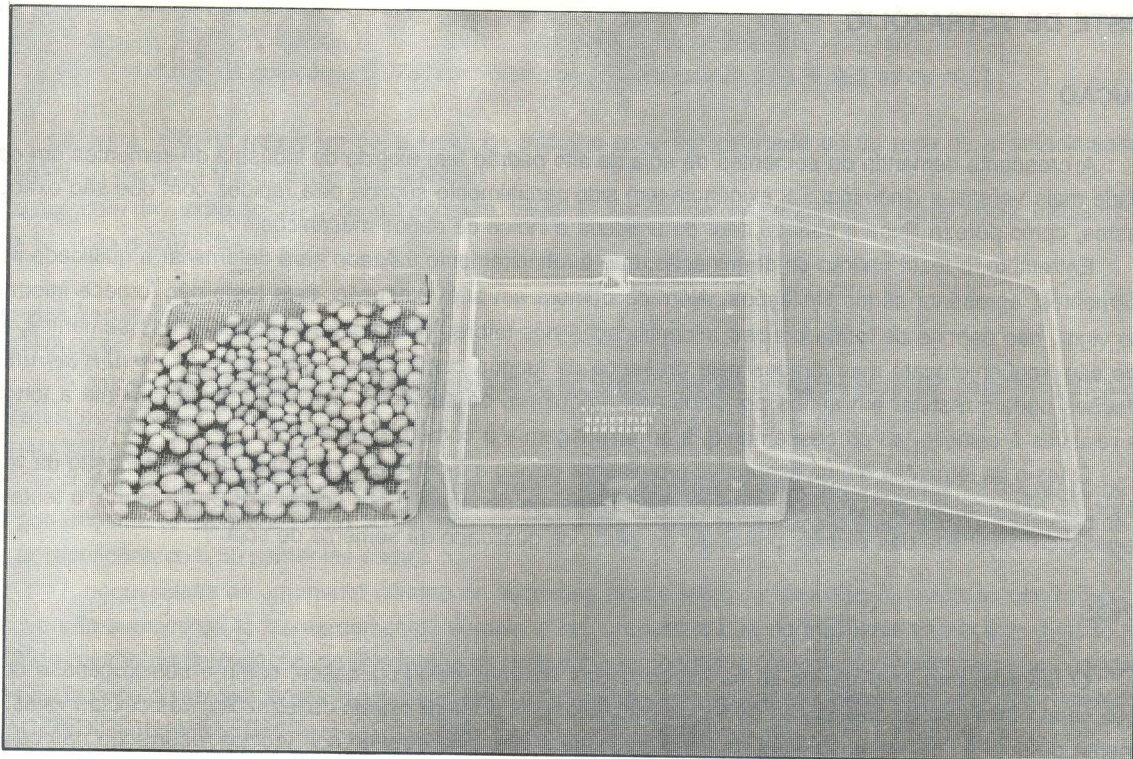


FIG. 2. Caixa de gerbox para o teste de envelhecimento precoce com 45 g de sementes de soja e 40 ml de água.

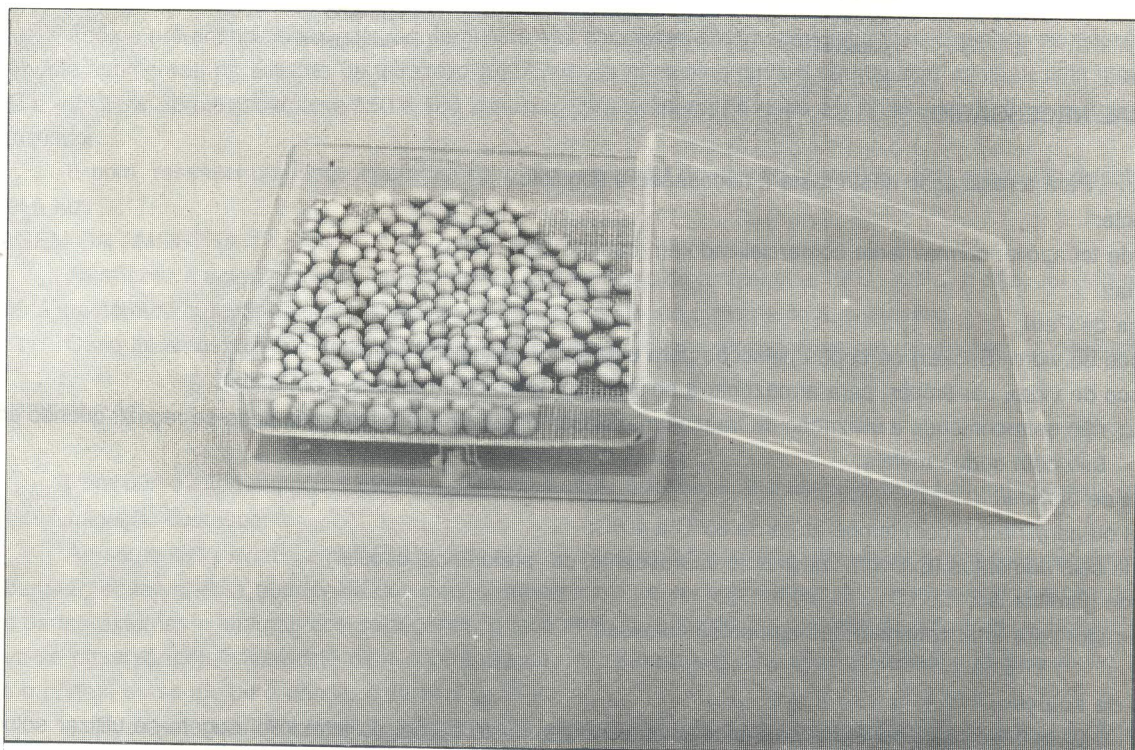


FIG. 3. Caixa de gerbox com bandeja e semente.



## II. O TESTE DE TETRAZÓLIO

### INTRODUÇÃO

A crescente demanda de sementes de soja de alto padrão tem exigido da indústria de sementes um controle de qualidade mais versátil e dinâmico. Tal exigência tem sido parcialmente suprida pela rapidez com que são executados alguns testes, como pureza física e varietal, teor de umidade e índice de danos mecânicos.

Entretanto, o teste padrão de germinação, que é rotineiramente utilizado para determinar a qualidade fisiológica das sementes, apresenta sérias limitações. Além da demora em sua execução, este teste não fornece informações quanto ao vigor, não permite de forma precisa a identificação dos fatores que afetam a qualidade das sementes, e seus resultados são freqüentemente mascarados pela presença de fungos como *Phomopsis* sp. e *Fusarium semitectum*. Tais limitações podem resultar em sérios prejuízos aos produtores de sementes por afetar negativamente a tomada de decisões relativas à colheita, ao processamento, à armazenagem e à comercialização.

O teste de tetrazólio é uma alternativa promissora devido a rapidez e a eficiência na determinação da viabilidade, do vigor, da deterioração por umidade e danos mecânicos, de secagem e por percevejo. Desta forma, o teste permite um diagnóstico detalhado das causas principais de perda da qualidade da semente de soja.

### PRINCÍPIOS

O teste de tetrazólio baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases, como a desidrogenase do ácido málico, que catalizam a reação de redução do sal de tetrazólio (2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio) nas células vivas. Quando a semente de soja é imersa na solução de tetrazólio, esta é difundida através dos tecidos, ocorrendo nas células vivas a reação de redução que resulta na formação de um composto vermelho, não-difusível, conhecido por formazan:



### MATERIAL NECESSÁRIO

- Para a realização deste teste é necessário o seguinte:

a) reagente:

- . sal de tetrazólio: normalmente comercializado em frascos com 10 g.

b) vidraria:

- . placa de Petri;
- . frasco de vidro (Becker) ou copos plásticos para cafezinho, volume ± 50 ml;
- . frasco de vidro, cor âmbar, para armazenar a solução de tetrazólio (reduz-se com a luz).

obs.: não se recomenda a utilização de frascos metálicos, uma vez que o tetrazólio pode-se reduzir quando em contato com certos metais.

c) lâmina de barbear;

d) estufa ou germinador, com temperatura de 35°C a 40°C;

e) lupa de seis aumentos (6x) com iluminação fluorescente, de preferência circular;

f) papel de germinação;

g) refrigerador para armazenagem das sementes coloridas.

### Preparo da solução

Com base na experiência de vários anos e no alto custo do sal de tetrazólio, sugere-se utilizar solução na concentração de 0,075%.

Prepara-se, inicialmente, a solução estoque a 1,0%, misturando 10,0 g do sal de tetrazólio em 1,0 l de água destilada. Esta solução deve ser armazenada em frasco de vidro de cor âmbar, em local escuro e fresco.

Quando necessário, prepara-se a solução de trabalho a 0,075%, que também deve ser armazenada com os



mesmos cuidados da solução estoque:

$$1,0 \text{ litro de solução a } 0,075\% = 75 \text{ ml solução estoque (1,0\%)} + 925 \text{ ml de H}_2\text{O}$$

A água utilizada no reparo da solução de trabalho pode ser destilada ou de rede de abastecimento, desde que apresente o pH entre 6 e 8, e não seja salobra.

Observação: com um vidro de 10 g de sal pode-se testar a viabilidade de até 250 lotes de semente, utilizando a solução a 0,075%.

### **Preparo das Sementes**

#### **- AMOSTRAGEM**

A amostra de trabalho deve ser representativa do lote e coletada conforme prescrito pelas Regras para Análise de Sementes (RAS).

#### **- NÚMERO DE SEMENTES**

Para o teste de germinação-padrão (em areia ou rolo de papel) as RAS recomendam a utilização de 400 sementes por amostra, (8 repetições com 50 sementes cada). Para o teste de tetrazólio é sugerida a utilização de 100 sementes (2 repetições com 50 sementes cada).

A necessidade de um menor número de sementes para o teste de tetrazólio é devida às condições homogêneas a que são submetidas todas as sementes durante o seu preparo, o que normalmente não ocorre durante a execução do teste-padrão de germinação: os gradientes de umidade e temperatura comumente encontrados nos germinadores, e a possibilidade da disseminação de fungos nos rolos de papel podem resultar em menor precisão dos resultados.

#### **- PRÉ-ACONDICIONAMENTO**

As sementes devem ser embaladas em papel toalha umedecido e mantidas nestas condições por um período de 16 horas, na temperatura de  $\pm 25^\circ\text{C}$ . Para evitar a perda de umidade as embalagens devem permanecer em câmara úmida, ou seja, em saco plástico, em germinador, ou em dessecador com água em lugar de sílica-gel.

#### **- COLORAÇÃO**

Após o pré-acondicionamento, as sementes são colocadas em frascos bequer ou copinhos de plásticos, sendo totalmente submersas na solução de tetrazólio (0,075%). As sementes devem permanecer assim a uma temperatura de  $35^\circ\text{C}$  a  $40^\circ\text{C}$  por aproximadamente 150 a 180 minutos. Esta temperatura pode ser obtida utilizando-se uma estufa ou um germinador.

É bom ressaltar que esta operação deve ser realizada no escuro, uma vez que a solução de tetrazólio é sensível à luz.

#### **- LAVAGEM DA AMOSTRA**

Alcançada a coloração ideal, as sementes são retiradas do ambiente a  $35^\circ\text{C}$  -  $40^\circ\text{C}$ , e são, em seguida, lavadas com água comum e devem ser mantidas submersas em água até o momento a avaliação.

Caso as amostras não sejam avaliadas de imediato, devem ser mantidas em refrigerador, por até 12 horas.

### **INTERPRETAÇÃO**

Para que a interpretação se torne menos cansativa, sugere-se que seja efetuada sob lupa de seis aumentos (6x), com iluminação fluorescente.

As sementes devem ser avaliadas uma a uma, seccionando-as longitudinalmente com o auxílio de uma lâmina de barbear, observando a ocorrência dos danos (mecânicos, de secagem e por percevejo e deterioração por umidade) nas partes externas e internas dos cotilédones, dando atenção especial ao eixo embrionário (radícula-hipocótilo) (Fig. 1). Deve-se observar detalhadamente se a ocorrência de determinado dano no eixo embrionário foi superficial, atingindo apenas o córtex, ou se afetou o cilindro central (Fig. 2).

Além disso, deve-se levar em consideração a localização do dano nos cotilédones, ou seja, se ocorrem longe ou próximo ao eixo embrionário.

Outro fator que deve ser observado é a diferenciação de cores dos tecidos:

- . vermelho carmin: tecido vivo e vigoroso
- . vermelho carmin forte: tecido em deterioração

. branco leitoso: tecido morto

Deve-se ressaltar que normalmente a parte interna dos cotilédones apresenta-se descolorida (branca).

A determinação da viabilidade e do vigor é realizada através da classificação de cada semente em uma das oito categorias descritas a seguir.

### Identificação dos níveis de viabilidade

Um manual detalhado para avaliar o vigor e a viabilidade da semente de soja foi elaborado pela EMBRAPA-CNPSo (França Neto et al., 1988), onde 8 classes de qualidade foram descritas, tendo em vista abordar os aspectos que comumente ocorrem para depreciar a qualidade da semente.

Uma síntese das 8 classes é apresentada nas Figs. 3 e 4, conforme relatado por França Neto (1989).

Classes de 1 a 3 identificam sementes viáveis e vigorosas.

Classe 1: todas as estruturas do embrião estão intactas. Coloração uniforme e superficial, indicando uma penetração lenta da solução de tetrazólio. Superfície interna dos cotilédones estão coloridas apenas nos bordos. Todos os tecidos do embrião estão normais e túrgidos (Fig. 3a).

Classe 2: danos pequenos e superficiais ocorrendo na superfície externa dos cotilédones. A superfície interna dos cotilédones e eixo embionário não apresentam nenhum sinal de dano. Uma semente desta classe com pequenos sinais de deterioração por umidade está ilustrada. (Fig. 3b).

Classe 3: estrias superficiais de coloração vermelho carmin forte ou áreas brancas estão presentes na superfície externa dos cotilédones (Fig. 3c), ou danos superficiais no córtex do eixo radicular hipocótilo, mas não alcançando o cilindro central. (Fig. 3b). Em ambas as figuras, a superfície interna da semente pode apresentar pequenas áreas mais escuras correspondentes às estrias externas e com uma espessura máxima de 0,5mm.

As sementes nessas três categorias são viáveis, vigorosas e usualmente têm uma germinação e emergência rápida e uniforme.

Classes 4 e 5 as sementes são viáveis, porém não vigorosas.

Classe 4: áreas de coloração vermelho carmin forte (tecido em estágio avançado de deterioração) ou branco-leitoso (tecido morto). Os danos são visíveis na superfície interna dos cotilédones. A região vascular não está afetada, bem como a junção entre o eixo embionário e os cotilédones. O cilindro central se apresenta intacto (Fig. 4a).

Classe 5: os cotilédones estão danificados severamente, mas 50% ou mais do tecido de reserva estão viáveis e funcionais. A região vascular próxima ao ponto de ligação entre o eixo embionário está bem definida e viável. Sementes classificadas nesta classe germinarão e produzirão plântulas normais somente sob condições ideais (Fig. 4b).

Classes 6 a 8 englobam sementes que não germinam.

Classe 6: esta classe é caracterizada pela presença de lesões similares às descritas para categoria 5. Mas a quantidade de tecido danificado é grande, tornando a semente não viável (Fig. 4c).

Classe 7: dano profundo no cilindro central. A região vascular entre o eixo embionário e ambos cotilédones está severamente danificada. A plúmula pode apresentar danos. Mais de 50% do tecido de reserva está deteriorado. (Fig. 4d).

Classe 8: todas as estruturas do embrião estão mortas, com tecidos flácidos e quebradiços.

A informação de resultados do teste é bastante detalhada, pois cada semente analisada é classificada numa determinada classe (1 a 8) e o tipo de dano ocorrente anotado, utilizando-se de ficha de anotação de resultados específicos (França Neto et al., 1988).

A somatória dos percentuais das classes 1 a 3 nos dá índice de vigor e a somatória dos valores das classes de 1 a 5 nos dá a viabilidade do lote de semente.

O nível de vigor pode ser interpretado de acordo com a seguinte classificação (França Neto, 1989):

vigor muito alto: superior a 80%;

vigor alto: entre 70 e 79%;

vigor médio: entre 50 a 69%;

vigor baixo: entre 30% a 49%;

vigor muito baixo: inferior a 29%.

A diagnose de perda de qualidade é obtida através da informação obtida nas classes 6 a 8, onde anota-se



as causas de perda (percevejo, umidade e dano mecânico) e destaca-se a razão principal, que então é computada percentualmente na classe devida, permitindo uma interpretação apurada das causas, e, por conseguinte, os procedimentos a serem adotados para se evitar que se repitam nas safras seguintes.

O nível de dano na classe 6 a 8 pode ser interpretado de acordo com a seguinte classificação:

- sem restrição: inferior a 6%;
- com restrição: entre 7% a 10%;
- com restrição séria: superior a 10%.

Um exemplo hipotético de resultados comumente encontrado em teste de tetrazólio com semente de soja é ilustrado na Tabela 1.

**TABELA 1. Ilustração de resultados oriundos do teste de tetrazólio para 3 lotes de sementes de soja.**

Parâmetros	lote 1	lote 2	lote 3
	..... % .....		
Viabilidade (1-5)	93	82	75
Vigor (1-3)	79	65	49
Dano mecânico (6-8)	2	10	5
Dano por umidade (6-8)	4	5	12
Dano por percevejo (6-8)	1	4	9

Fonte: FRANÇA NETO, 1989.

A interpretação desses resultados é procedida da seguinte maneira:

- O lote 1 apresenta boa viabilidade, bom vigor e sem nenhuma limitação quanto a danos mecânicos, percevejo e umidade;
- O lote 2 tem viabilidade próxima de 80%, nível de vigor classificado médio, devido principalmente a um problema sério com dano mecânico;
- O lote 3 tem viabilidade de 75%, nível de vigor classificado como baixo, devido à associação de dois problemas, dano por umidade e dano por percevejo.

Visando padronizar a adoção da metodologia descrita para soja, a EMBRAPA-CNPSO já treinou mais de 500 profissionais envolvidos nas áreas de ensino, pesquisa, análise e produção de sementes através de 23 cursos formais de tetrazólio e estágios, desde 1980.

## PRECISÃO DE RESULTADOS

Em condições normais, os resultados de viabilidade obtidos nos testes padrão de germinação e tetrazólio devem ser semelhantes, permitindo diferenças de até 5% entre os mesmos. Entretanto, discrepâncias maiores entre os resultados podem ocorrer, sendo explicadas por uma das seguintes razões:

- a) diferenças de amostragem;
- b) técnicas impróprias no teste de germinação;
- c) técnicas impróprias no teste de tetrazólio;
- d) presença de sementes duras nas amostras; e
- e) sementes infectadas por fungos, tais como *Phomopsis* sp. e *Fusarium semitectum*

## VANTAGENS E LIMITAÇÕES DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA A SOJA

### Vantagens

- a) não é afetado por condições ambientais que normalmente afetam os testes de crescimento;
- b) possibilita examinar as condições físicas e fisiológicas das estruturas do embrião;
- c) permite rápida avaliação: 19 h para soja;
- d) permite a identificação de diferentes níveis de viabilidade;
- e) fornece o diagnóstico da causa da queda de viabilidade da semente;
- f) o equipamento necessário é simples e barato;
- g) um analista experiente pode ter um rendimento de 4 a 5 amostras (2 x 50 sementes) por hora.

### Limitações

- a) requer treinamento especial sobre a estrutura embionária da semente e sobre técnicas de interpretação;
- b) é relativamente tedioso, uma vez que as sementes são avaliadas uma a uma, requerendo, desta forma, paciência e experiência;
- c) embora seja um teste relativamente rápido, ele consome maior número de homens-hora que o teste padrão de germinação; mas o TZ fornece mais informações que o teste padrão;
- d) não mostra a eficácia de tratamentos químicos nem as injúrias que estes possam causar;
- e) não detecta a presença de patógenos nas sementes;
- f) requer um processo periódico de reciclagem, tendo em vista que o analista tende, com o passar dos anos, a criar critérios e procedimentos personalizados, desviando-se dos conceitos tidos como padrões.

A adoção deste teste para outras espécies no nível de detalhe que se faz para soja vem evoluindo. A Universidade Federal de Viçosa está desenvolvendo trabalhos com feijão (Pena et. al., 1989) o que propiciará um grande apoio aos produtores de sementes que têm nesta leguminosa seu produto principal.

A utilização do teste de tetrazólio em outras espécies se limita à avaliação da viabilidade das sementes, ficando o aspecto de vigor de uso na indústria de semente ainda restrito a soja.

## REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura. Regras para Análise de Sementes. Brasília, DF. 1976. 188p. (Portaria do M.A. nº 532, de 28/07/76. DISEM/DNPV).
- FRANÇA NETO, J.B.; PEREIRA, L.A.G.; COSTA, N.P.; KRZYZANOWSKI, F.C. & HENNING, A.A. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina, EMBRAPA-CNPSO. 1988. 37p. (EMBRAPA-CNPSO. Documentos, 32).
- FRANÇA NETO, J.B. **Pathological and physiological studies of soybean seed quality**. Gainesville, University of Florida, 1989. 199p. (Tese de Doutorado).
- PENA, M.F.; SILVA, R.F.; ALVARENGA, E.M. Proposição de uma metodologia para avaliação da viabilidade e vigor das sementes de feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 6, Brasília, DF. **Resumos...**, Brasília. ABRATES, 1989. p.68.



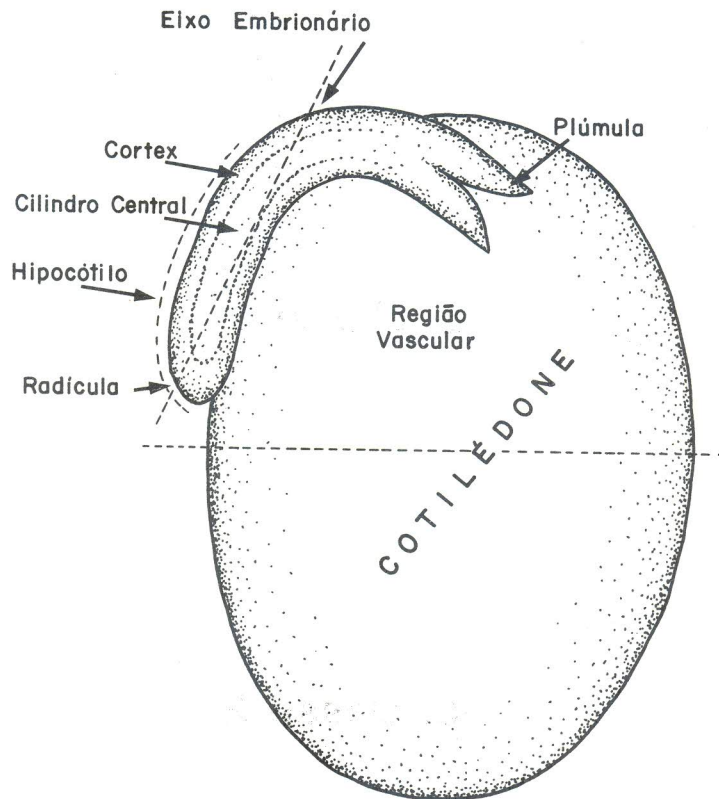


FIG. 1. Corte longitudinal de uma semente de soja, mostrando suas estruturas embrionárias.  
Fonte: França Neto et al. (1988)

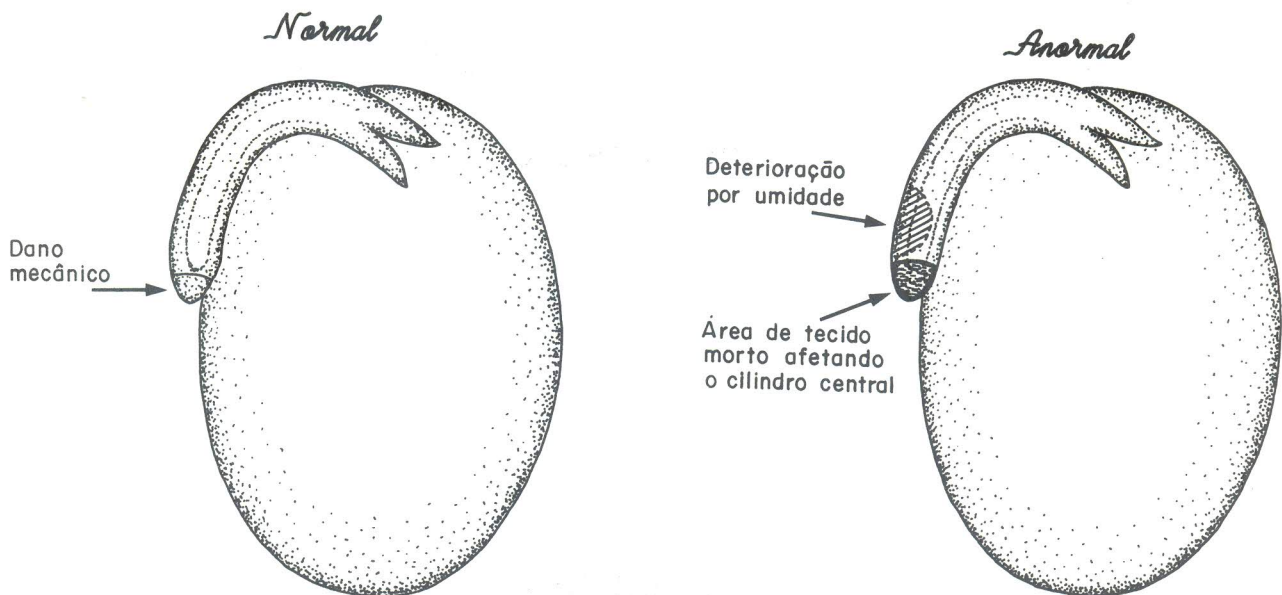
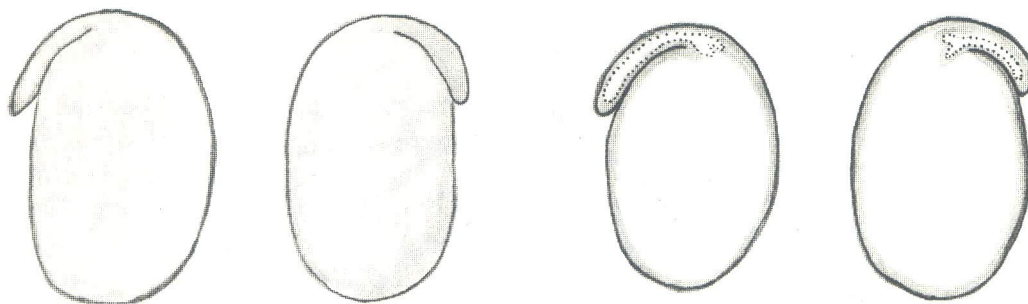
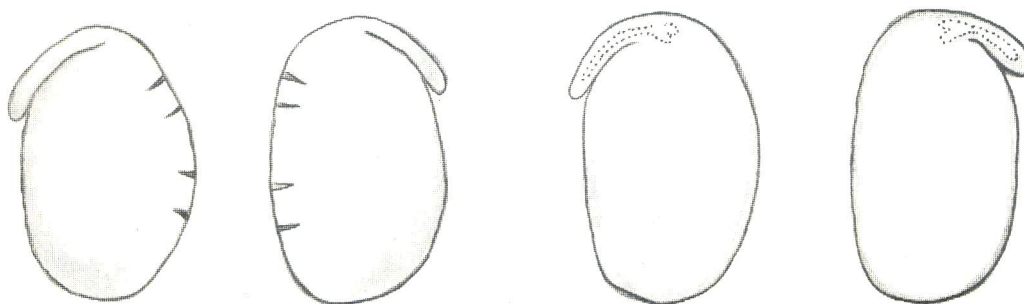


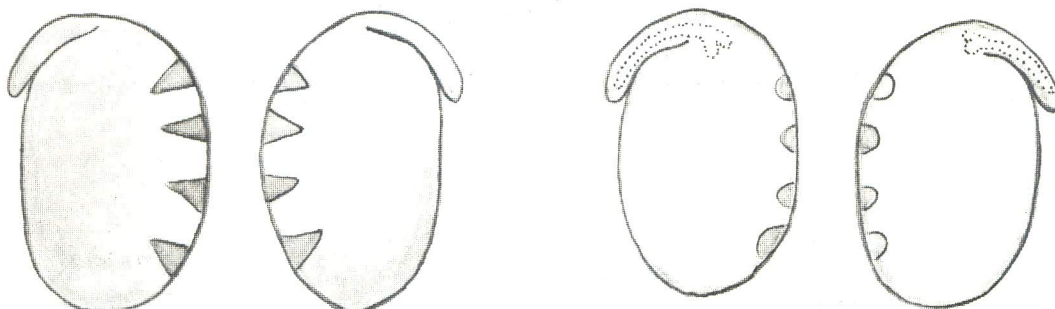
FIG. 2. Corte longitudinal de duas sementes de soja, mostrando a ocorrência de danos no eixo radícula-hipocótilo.  
Fonte: França Neto et al. (1988)



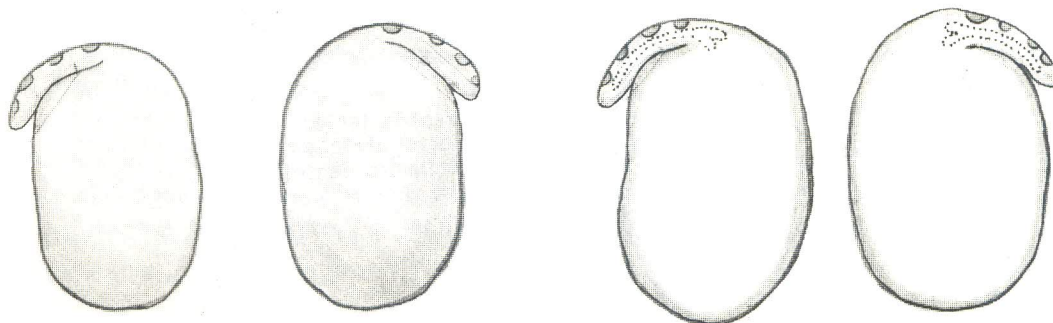
**a: classe 1**



**b: classe 2**



**c: classe 3**

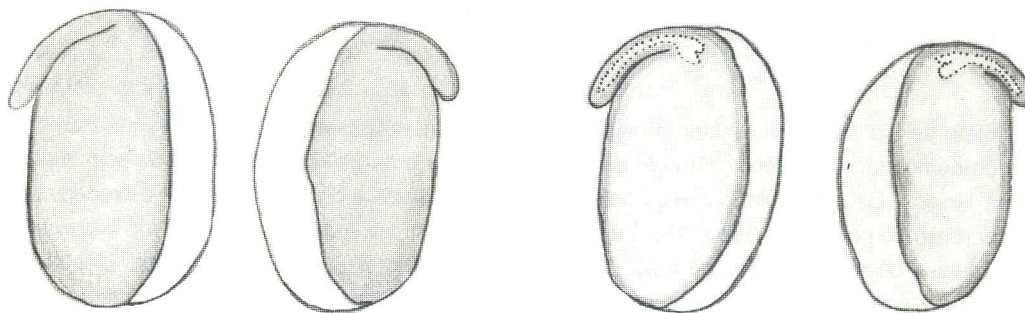


**d: classe 3**

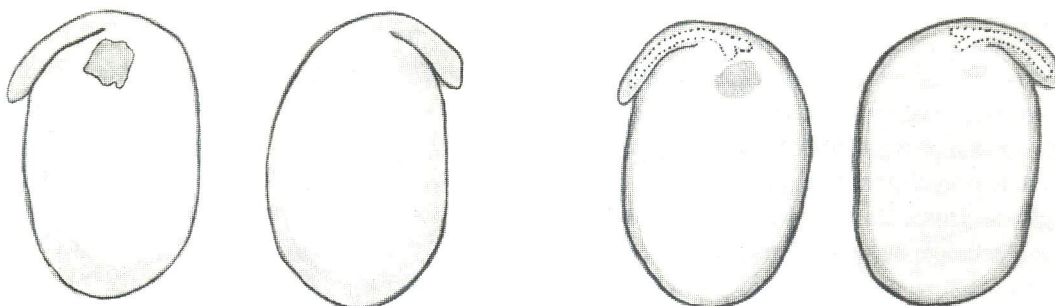
FIG. 3. Ilustração de diferentes níveis de viabilidade de sementes de soja: a) classe 1; b) classe 2; c) classe 3, com danos nos cotilédones; d) classe 3, com danos no eixo embrionário.

Fonte: França Neto (1989)

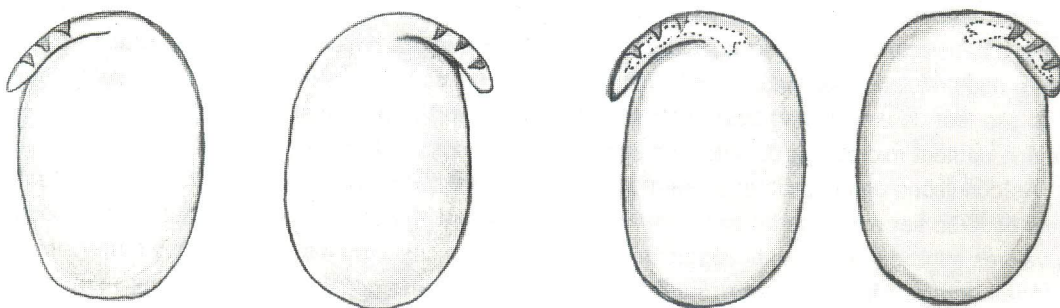




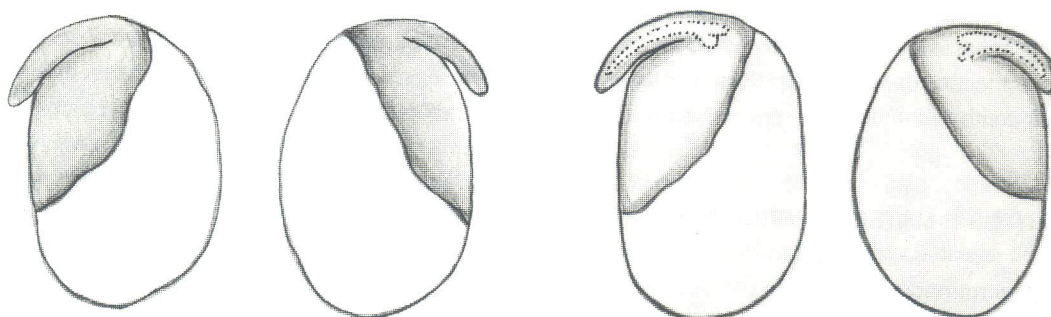
**a: classe 4**



**b: classe 5**



**c: classe 6**



**d: classe 7**

FIG. 4. Ilustração de diferentes níveis de viabilidade de sementes de soja: a) classe 4; b) classe 5; c) classe 6, com danos nos cotilédones; d) classe 7, com danos no eixo embrionário.

Fonte: França Neto (1989)

### III. TESTE DE FRIO

Culturas: milho, soja e algodão

O teste de frio é um dos testes de vigor mais amplamente utilizado em diversas regiões de clima temperado, onde a época de semeadura pode coincidir com períodos chuvosos e de baixa temperatura de solo. Este teste é adotado nos Estados Unidos, Canadá e em diversos países da Europa desde a década de 60, e o procedimento para a sua execução foi padronizado pela ISTA (Fiala, 1981) e pela AOSA (1983). Na Áustria, o teste de frio é obrigatório para a certificação de sementes de milho, sendo que o padrão mínimo para comercialização é de 85% de plântulas vigorosas.

No Brasil, este teste apresenta bom potencial de utilização, principalmente nos estados do sul, onde lavouras de algodão, milho e soja podem ser semeadas a partir de setembro a meados de outubro. Nesta época é comum a ocorrência de frentes frias chuvosas, as quais, dependendo do nível de vigor dos lotes de sementes usados na semeadura, poderão resultar em sérios problemas de germinação e emergência de plântulas. Nestas condições, o teste de frio pode funcionar como um instrumento de grande valor para a seleção prévia dos lotes de sementes que apresentam bom potencial de emergência em solos frios e úmidos.

Além desta, o teste de frio apresenta outras utilidades (AOSA, 1983): avaliação da eficácia do tratamento de sementes com fungicidas; seleção de genótipos que germinem bem em solos frios e úmidos; avaliação da deterioração fisiológica devido a problemas de secagem, armazenagem, maturação, ou qualquer outro problema; determinação dos efeitos dos danos mecânicos sobre a germinação em solos úmidos e frios; determinação da densidade de semeadura para cada lote individualizado. Desta forma, o teste de frio apresenta-se como uma boa opção à indústria sementeira, visando a implementação de um sistema de controle de qualidade mais eficaz.

#### PRINCÍPIOS DO TESTE

A semeadura em solos frios e úmidos apresenta sérios riscos de baixa germinação e emergência, o que resultará no não estabelecimento de uma população adequada de plantas, podendo, por sua vez, acarretar na realização de replantios e nos prejuízos associados com esta prática. O teste de frio baseia-se nos efeitos negativos de baixa temperatura e do alto teor de umidade do solo sobre a emergência de plântulas. A estas condições, está também associada a ação deletéria da flora microbiana do solo, que atua como fonte adicional de estresse no teste.

As condições de umidade e temperatura adotadas no teste de frio tentam simular as condições adversas de solo às quais poderão ser expostas as sementes após a semeadura. Desta forma, os resultados do referido teste representam os valores mínimos de germinação que poderão ser obtidos quando o lote de sementes for semeado em condições precárias de solo frio e úmido. Por outro lado, o teste padrão de germinação representa o potencial máximo de germinação do lote em condições ideais de temperatura e umidade. Assim sendo, os resultados esperados de emergência a campo estarão situados entre os dois extremos. Quando o resultado do teste de frio for próximo ao obtido no teste padrão de germinação, o referido lote de sementes apresenta um bom potencial de emergência a campo sob condições diversas de temperatura e umidade do solo.

A capacidade que as sementes tem de germinar em condições de solo frio e úmido é afetada por fatores genéticos, danos mecânicos, tratamento de sementes e condições fisiológicas e sanitárias das sementes. O teste de frio mede os efeitos combinados de todos esses fatores e provavelmente de outros.

#### EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS

**Bandejas de germinação:** caixas de plástico de aproximadamente 18 x 25 x 10 cm, ou de outro tamanho, com tampas que propiciem boa vedação. (Fig. 1).

**Câmaras com controle de temperatura:** capazes de manter temperaturas de 10°C e 25°C, com variação máxima de  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

**Balança:** de rápida leitura, com precisão de  $\pm 5\text{g}$ .

**Estufa:** capaz de manter temperatura de 105°C, visando a determinação do teor de umidade e a capacidade de retenção de água do substrato de germinação.



**Recipientes para determinação de umidade:** recipientes metálicos com tela ou perfurações na parte de baixo (ex.: lata de nescau, ou similar), para determinação do teor de umidade e a capacidade de retenção de água do substrato de germinação.

**Frascos com volume graduado:** para a aplicação de água.

**Espátula para nivelamento do solo:** instrumento simples, feito à mão, usado para o nivelamento e ligeira compactação da mistura do solo nas caixas plásticas.

## PROCEDIMENTO

Os procedimentos sugeridos a seguir baseiam-se principalmente no Manual de Testes de Vigor para Sementes de AOSA (1983), contendo também algumas adaptações sugeridas pela ISTA (Fiala, 1981) e pelos autores.

### 1. Preparo do Meio de Germinação

O meio de germinação deve ser composto por solo de superfície coletado de área onde houve o recente cultivo da espécie cujas sementes serão testadas. Caso o solo contenha altos teores de argila, sugere-se a mistura em partes iguais com areia lavada. Solos que contenham resíduos de herbicidas ou de outros produtos que sejam prejudiciais à germinação das sementes devem ser evitados. O solo não pode ser esterilizado ou pasteurizado, devendo ser peneirado em peneiras de 5mm. Sugere-se o preparo e o armazenamento de quantidade suficiente de meio, para facilitar a execução do teste em várias amostras. O meio de germinação deve ser armazenado com teores moderados de umidade, em recipientes com tampa, como, por exemplo, em caixas d'água de amianto. A capacidade de retenção de água e o teor de umidade do meio devem ser determinados antes de sua utilização. O meio deve apresentar uma capacidade mínima de retenção de água de 40%.

A determinação do teor de umidade do substrato de germinação é realizada através da coleta de amostras representativas do mesmo, as quais são homogêneas e acondicionadas em recipientes metálicos adequados (ex: lata de nescau). O recipiente vazio é pesado e depois determina-se também o seu peso com a amostra do meio, o qual é colocado em estufa a 105°C por 16 a 24 horas. Após este período, o recipiente com o meio de germinação é pesado novamente, e a porcentagem de umidade do substrato é determinada conforme o exemplo:

a. Peso do recipiente (lata de nescau) -----	100 g
b. Peso do substrato mais o recipiente antes da secagem-----	1200 g
c. Peso do substrato mais o recipiente após a secagem-----	1100 g
d. Perda de umidade (b - c)-----	100 g
e. Peso seco do substrato (c - a)-----	1000 g
f. Porcentagem de umidade do substrato-----	10,0 %

$$\text{(Perda de umidade } \div \text{ peso seco do meio) } \times 100, \text{ ou } (d \div e) \times 100$$

O procedimento para determinar a capacidade de retenção de água do substrato é muito semelhante. Amostras do meio de germinação são coletadas da mesma forma, conforme relatado anteriormente, mas os recipientes devem ser perfurados na parte inferior, para permitir que o excesso de água possa ser drenado do recipiente.

Depois de serem pesados, os recipientes são encheidos com substrato, o qual é saturado com água até o ponto em que se possa observar o excesso de água sendo drenado pelos orifícios do recipiente. A seguir, os recipientes são cobertos com papel de germinação úmido, sendo então colocados em câmara úmida (ou saco plástico) por 16 a 24 horas, para drenar o excesso de água. Após este período são novamente pesados e colocados a secar em estufa a 105°C por 16 a 24 horas. Após a secagem os recipientes com o meio são novamente pesados, e a capacidade de retenção de água do substrato é calculada da seguinte forma:

a. Peso do recipiente -----	100 g
b. Peso do meio saturado mais o recipiente -----	1500 g
c. Peso do meio mais o recipiente após a secagem -----	1100 g
d. Perda de umidade (b - c)-----	400 g
e. Peso seco do meio de germinação (c - a) -----	1000 g

f. Capacidade de retenção de água  $(d \div e) \times 100$  ----- 40,0 %

Para que as determinações do teor de umidade e da capacidade de retenção de água do meio de germinação sejam mais precisas, sugere-se que pelo menos duas sub-amostras sejam utilizadas. As porcentagens médias devem ser calculadas com precisão de um décimo de por cento.

## 2. Preparo das Sementes

Se o teste de frio for utilizado visando-se determinar o potencial do lote de sementes para a semeadura, as sementes a serem testadas devem apresentar as mesmas características das que serão efetivamente semeadas no campo. Se as sementes receberem um tratamento com fungicidas antes da semeadura a campo, o mesmo tratamento deve ser dispensado às amostras que serão testadas em laboratório.

## 3. Instalação do Teste

Deve-se utilizar pelo menos quatro repetições de 50 sementes cada por lote testado. A ISTA (Fiala, 1981) sugere oito repetições de 50 sementes. De maneira geral, a operação de semeadura é realizada após a colocação de uma camada de 2,0 cm de solo na caixa plástica, a qual é nivelada antes da distribuição das 50 sementes em cada caixa. Após a semeadura, as sementes devem ser levemente pressionadas para dentro do solo com o auxílio de uma prancha de madeira com cabo, cortada na forma do interior da caixa plástica. Aproximadamente o mesmo volume de solo colocado inicialmente na caixa é distribuído sobre as sementes, sendo também nivelado e ligeiramente compactado. Adiciona-se água suficiente para trazer o meio de germinação a 70% de sua capacidade de retenção de água, quando o teste for realizado em sementes de milho ou soja. Para sementes de algodão (Tabela 1), a capacidade de retenção de água é ajustada para 60% (Baskin, s.d.). É importante que a água esteja previamente resfriada a 10°C. Sugere-se que a temperatura do solo esteja também ajustada a 10°C antes da montagem do teste. Após a adição da água, as caixas plásticas são tampadas, e colocadas em câmara escura ou refrigerador a 10°C por sete dias (três dias para algodão). Terminado este período, as caixas são transferidas para outra câmara a 25°C, lá permanecendo por quatro dias (sete dias para algodão). Findo este prazo, são então realizadas as contagens e medições necessárias.

**TABELA 1. Condições necessárias para a execução do teste de frio em sementes de milho, soja e algodão.**

Cultura	Porcentagem da Capacidade de Retenção de Água do Meio	Período a 10°C (dias)	Período a 25°C (dias)
Milho <sup>1</sup>	70	10	4
Soja <sup>2</sup>	70	10	4
Algodão <sup>3</sup>	60	3	7

<sup>1</sup> ISTA (1981); AOSA (1983)

<sup>2</sup> Tao (1978); Johnson e Wax (1978)

<sup>3</sup> Baskin (s.d.)



A seguir, tem-se, como exemplo, os procedimentos detalhados de como calcular a quantidade de água necessária para ajustar o meio de germinação a 70% de sua capacidade de retenção de água. Conforme ilustrado previamente, o meio de germinação apresenta 10% de umidade e capacidade de retenção de 40% de seu peso seco.

Determina-se inicialmente o peso médio das caixas plásticas sem a tampa. Este peso pode variar em algumas gramas de caixa para caixa, mas esta variação não interferirá nos resultados finais do teste. No exemplo, será assumido o peso médio de 300 g para cada caixa.

O próximo passo será a determinação da quantidade de meio de germinação necessária para se obter a camada de 2,0 cm distribuída uniformemente sobre o fundo da caixa, sem ser compactada. No exemplo, esta quantidade de meio será representada por 880g.

A caixa plástica (300g) é colocada sobre a balança, e a quantidade apropriada do meio de germinação (880 g) é adicionada, tendo-se o peso final de 1.180 g. Após a adição do meio, retira-se a caixa da balança, e realiza-se o nivelamento da camada. Faz-se a distribuição das sementes, seguida pela ligeira compactação das sementes, conforme descrito anteriormente. Retorna-se a caixa à balança, e a mesma quantidade de meio (880 g) é distribuída sobre as sementes, tendo-se, portanto um peso total de 2.060 g, ou seja, 300 g da caixa, mais 880 g da primeira camada, mais 880 g da segunda camada. Logicamente as 50 sementes adicionadas tem um peso, porém, para fins práticos, este peso pode ser desconsiderado.

Após a adição da segunda camada do meio, a caixa pode ser removida da balança, realizando-se, em seguida, o nivelamento e ligeira compactação desta camada. Será adicionada em seguida quantidade de água necessária para se ajustar o meio a 70% (ou 60% para algodão) de sua capacidade de retenção de água.

Antes de se calcular o quanto de água deve-se adicionar por caixa, determina-se o “peso seco equivalente” do meio de germinação. Como previamente ilustrado, o meio de germinação contém umidade equivalente a 10% de seu peso seco. Em outros termos, o peso “úmido” do meio equivale a 110% de seu peso seco (peso “úmido” = peso seco x 1,10). O peso seco equivalente pode, então, ser calculado dividindo-se o peso “úmido” por 1,10. Em cada caixa tem-se 1.760 g de meio com 10% de umidade. Dividindo-se este valor por 1,10, obtem-se 1.600 g de peso seco equivalente de meio.

A capacidade de retenção de água do referido meio ilustrado neste exemplo foi estimada em 40,0% de seu peso seco. Se houvesse a intenção de se saturar o meio, adicionar-se-iam 640 g de água, ou seja,  $1.600 \text{ g} \times 0,40$ . Entretanto, deseja-se apenas 70% desta quantidade (70% da capacidade de retenção de água). Desta forma, necessita-se de  $640 \text{ g} \times 0,70 = 448 \text{ g}$  de água, no total. O meio de germinação já contém 160 g de água (10% de 1600 g). Portanto, deve-se adicionar  $448 \text{ g} - 160 \text{ g} = 288 \text{ g}$  de água por caixa. Esta quantidade de água pode ser medida volumetricamente, devendo ser uniformemente distribuída sobre o meio de germinação. Caso esta quantidade de água seja determinada com o auxílio da balança, ter-se-á um peso final por caixa de 2.348 g (300 g da caixa, 1.760 g do meio e 288 g de água).

Pode-se facilitar a instalação do teste trabalhando-se com medidas volumétricas. Determina-se de forma precisa o volume de 880 g de meio e prepara-se um recipiente com esta medida. Entretanto é de suma importância que a mesma quantidade de meio de germinação seja colocada em todas as caixas utilizadas no teste, caso contrário, haverá uma fonte externa de variação, que resultará em teores inapropriados de umidade do meio de germinação, e, conseqüentemente, os resultados de germinação obtidos serão afetados.

## Interpretação dos Resultados

Findo o período de exposição a 25°C, faz-se a leitura do teste. Os resultados do teste de frio são normalmente expressos em porcentagem de germinação. Para milho, este dado é expresso pela porcentagem de plântulas vigorosas, ou seja, plântulas cuja plúmula apresenta comprimento de 2,5 cm ou mais acima do meio de germinação (AOSA, 1983).

A ISTA (Fiala, 1981) sugere a classificação das plântulas de milho em cinco grupos:

- Grupo 1: plântulas fortes, sem danos;
- Grupo 2: plântulas fortes, mas com o desenvolvimento um pouco atrasado, ou apresentando danos superficiais, como, raízes primárias ou secundárias ligeiramente encurtadas, danos superficiais nos ápices das folhas, danos nos coleótilos, mas não às folhas, e mesocótilo moderadamente torcido;
- Grupo 3: a) plântulas fracas e retorcidas ou curtas, com poucas raízes laterais; b) plântulas fortes, mas desproporcionalmente desenvolvidas;
- Grupo 4: plântulas anormais de acordo com as RAS;



#### Grupo 5: sementes mortas.

Plântulas classificadas nos Grupos 1 e 2 são consideradas vigorosas, e plântulas do Grupo 3 são consideradas normais, porém não vigorosas.

Para soja e algodão, as plântulas são classificadas como normais vigorosas, normais não vigorosas, anormais, infectadas (ou com tombamento).

A padronização do teste de frio entre laboratórios apresenta limitações, uma vez que o tipo de solo usado no teste varia física, biológica e quimicamente de região para região (AOSA, 1983; Tao, 1978). Entretanto, Fiala (1981) mencionou que, desde que não haja variações extremas quanto a estas características de solo, os resultados do teste de frio podem ser comparados entre laboratórios.

Os resultados do teste de frio permitirão a classificação dos lotes de sementes de acordo com o seu potencial de vigor. O usuário deste teste deve comparar os resultados obtidos no teste com o desempenho do lote no campo, com a finalidade de conhecer melhor o teste e, assim sendo, poder tomar as decisões mais acertadas quanto à possível utilização dos lotes de sementes.

A interpretação dos resultados obtidos pelo teste de frio pode ser facilitada com a utilização de uma amostra testemunha, cujo resultado do teste é previamente conhecido. Quando o teste é realizado em vários lotes de sementes, faz-se também a análise da amostra testemunha. Os resultados obtidos nos lotes desconhecidos podem ser comparados com o obtido na amostra testemunha, tendo-se, assim, uma noção relativa do potencial de vigor de cada um dos lotes testados. Caso o resultado da amostra testemunha seja diferente do seu resultado prévio, já conhecido, isto significa que houve algum problema na condução desses testes, implicando, desta forma, na necessidade da repetição das referidas análises.

#### Procedimentos Alternativos

O procedimento descrito acima para o teste de frio é considerado como o método “completo”, uma vez que as sementes são efetivamente semeadas em solo contendo a flora microbiana natural, e as condições de estresse de temperatura e umidade são cuidadosamente controladas. Existem modificações do teste, as quais não apresentam o mesmo controle das condições ambientais, principalmente no que se refere ao teor de saturação de umidade do solo. Apesar destas limitações, os resultados obtidos por estas metodologias mais simplificadas podem ser utilizados com o intuito de se conhecer o potencial de vigor de lotes de sementes, principalmente quando o volume de lotes a serem testados for grande. São dois os métodos simplificados: o método de rolo de papel e o de bandeja. Este método apresentam uma vantagem adicional, que é a economia de solo e espaço.

O método de rolo de papel foi originalmente desenvolvido por Hoppe (1955) e Crosier (1957), sendo detalhado a seguir, segundo orientações da AOSA (1983). O método utiliza duas folhas de papel de germinação embebidas em água a 10°C, ou embebidas em água e resfriadas a 10°C. Sobre elas são colocadas 50 sementes, conforme é realizado no teste padrão de germinação. As sementes são cobertas por uma fina camada ( $\pm 1,0$  cm) de mistura solo/areia (em partes iguais), sendo o solo proveniente de área previamente cultivada com a cultura, cujas sementes estão sendo testadas. Após, uma outra folha de papel de germinação embebida a 10°C é colocada sobre as sementes e a camada de solo/areia. As folhas de papel são enroladas, sendo os rolos colocados em posição vertical dentro de um recipiente plástico, o qual é transferido para uma câmara a 10°C. Sete dias após (para milho e soja, ou três dias para algodão), os rolos são transferidos em germinador a 25°C, e as plântulas são avaliadas após quatro dias, no caso de milho ou soja, ou sete dias, no caso de algodão.

A ISTA (Fiala, 1981) relata uma modificação de método de rolo, utilizando papel filtro de maior densidade e espessura, porém os princípios do teste são os mesmos.

No método da bandeja, são utilizadas bandejas de lanchonete do tipo “fast-food”, com as dimensões de 45 x 66 cm. Uma folha de papel tipo “kimpak” de 40 x 61 x 0,5 cm é colocada sobre a bandeja, e embebida em 1,100 ml de água resfriada a 10°C. É importante que a água seja uniformemente distribuída sobre o papel. Duas (ou quatro) repetições de 100 sementes cada são semeadas sobre o papel, sendo, em seguida, cobertas por mistura solo/areia. Faz-se o nivelamento desta mistura sobre a bandeja com uma régua, deixando-se um espaço de 0,4 cm entre o nível desta camada e a superfície da bandeja. A mistura solo/areia absorve rapidamente a água do papel, e terá seu teor de umidade equilibrado ao redor de 70% de saturação. A quantidade de água a ser adicionada por bandeja deve ser recalculada toda vez que houver mudanças quanto ao tipo de solo ou quanto ao seu teor de umidade, ou quando as bandejas a serem



utilizadas tiverem dimensões diferentes.

As bandejas são empilhadas em carrinhos de germinação, dando-se um espaço vertical entre bandejas de 7,5 cm. Os carrinhos são transferidos para ambiente a 10°C, por sete dias, após o que são transferidos a ambiente a 25°C por quatro dias. Oito horas de luz são fornecidas no ambiente a 25°C. As plântulas são avaliadas normalmente, conforme o teste normal de germinação em papel "kimpak".

## REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS - AOSA. Seed Vigor Testing Handbook. AOSA. The Seed Vigor Test Committee, 1983. 88p. (Contribuição nº 32 ao Handbook on Seed Testing).

BASKIN, C.C. Procedure for cold test for cotton. Mississippi, Mississippi State University, s.d. 3p.

CROSSIER, W.F. Fungi involved and methods of conducting cold tests. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, 47:185-190. 1957.

FIALA, F. Cold test. In: PERRY, D.A., ED. **Handbook of vigour test methods**. Zurique, International Seed Testing Association. Vigour Test Committee, 1981; p.28-36.

HOPPE, P.E. **Cold testing seed corn by the roller towel method**. Wiscosin, Wiscosin Agricultural Experimental Station, 1955. 5p. (Boletim nº 507).

JOHNSON, R.R., e L.M. MAX. Relationship of soybean germination and vigor test to field performance. **Agron. J.**, 70:273-278. 1978.

TAO, K.J. Effects of soil water holding capacity on the cold test for soybeans. **Crop. Sci.**, 18:979-982. 1978.

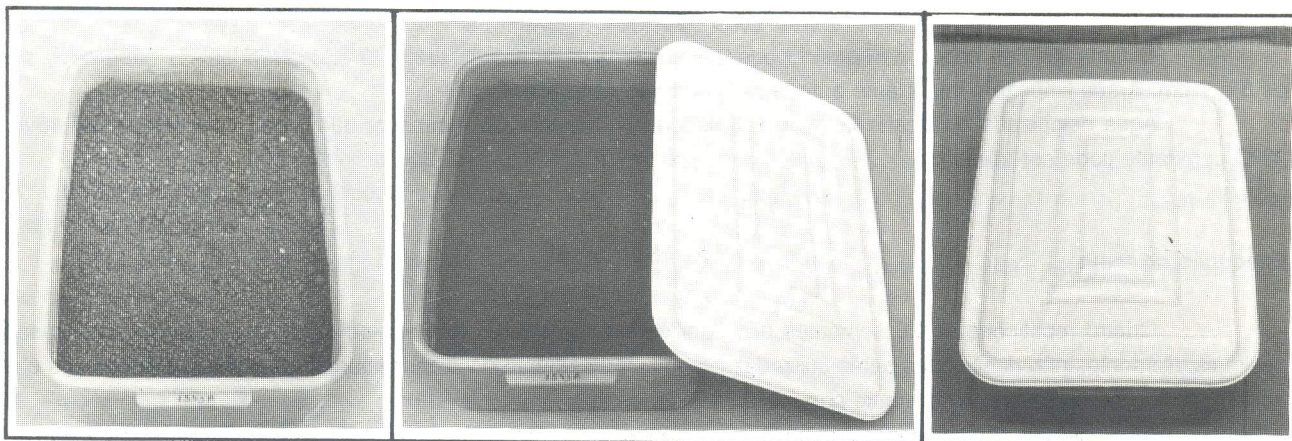


FIG. 1. Ilustração da caixa plástica com tampa utilizada no teste de frio.

## IV. TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA

### INTRODUÇÃO

Sementes de baixo vigor apresentam menor integridade de membranas como resultado dos processos de deterioração no armazenamento e danos mecânicos. Durante o processo de imbebição, essas sementes, com membranas danificadas, lixiviam solutos citoplasmáticos (eletrólitos) no meio líquido. Os solutos, com propriedades eletrolíticas, possuem cargas elétricas que podem ser medidas com um condutivímetro.

O processo é simples, rápido, preciso e barato. Todavia, alguns cuidados devem ser tomados. Tanto o teor inicial de umidade da semente quanto o tratamento com produtos químicos, podem afetar os resultados. No primeiro caso a padronização do teor de umidade da semente poderá eliminar disparidade de resultados. No caso de produtos químicos, esses devem ser removidos antes da realização dos testes.

O teste de condutividade pode ser conduzido através do sistema de copo de becker (bulk) ou células individuais (ASA 610 e ASAC 1000). No sistema de "bulk" a principal desvantagem é que os resultados expressam a condutividade média de 25 (vinte e cinco sementes), assumindo assim que todas as sementes estão igualmente deterioradas. Todavia, um lote de sementes é composto de uma população de indivíduos, cada qual com seu potencial (vigor) característico. Por essa razão, os equipamentos que medem a condutividade em células individuais apresentam melhor precisão.

Estudos recentes demonstraram a superioridade desses aparelhos em relação ao sistema "bulk" em soja (McDonald & Wilson, 1979 e 1980; Miles & Copeland 1980); algodão (Hopper & Hinton 1980), Cowpea (Beighley & Hopper 1981) e milho (Joo et al. 1980).

### EQUIPAMENTOS E PROCEDIMENTOS

#### a) SISTEMA DE COPO DE BECKER (bulk system).

Condutivímetros adequados podem ser obtidos em casas especializadas de equipamentos para laboratório de análise, desde que o sensor (eletrodo), possua constante do eletrodo 1,0. O eletrodo pode ser calibrado através da solução KCl. Para tal dissolve-se 0,745 gramas de KCl puro e seco (secando à temperatura de 150°C por 1 hora e resfriando em dessecador antes da pesagem) em 1 litro de água deionizada. Nesta solução o medidor deverá marcar 1.273 micromhos por centímetro ( $\mu\text{mhos cm}^{-1}$ , ou  $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) a 20°C ou 1.408  $\mu\text{mhos cm}^{-1}$  a 25°C. Entretanto, desde que a água deionizada também tem condutividade, a medida de condutividade será ligeiramente superior (normalmente 1 a 2  $\mu\text{mhos}$  a mais).

A limpeza do eletrodo é importante para a correta leitura. Recomenda-se que a célula seja repetidamente lavada com água deionizada ou destilada no fim do teste até que a leitura da água deionizada ou destilada volte para os valores originais.

O tamanho dos copos de becker pode influenciar o resultado do teste. O diâmetro ideal da base deve ser de 6 a 7 cm. A sua limpeza é importante e deve ser conferida periodicamente.

Água deionizada ou destilada pode ser usada. Germinador ou incubador que tenha capacidade de prover 20°C constante pode ser utilizado.

### Execução do teste

Quatro repetições de 25 sementes não danificadas são utilizadas. Pesa-se cada repetição até duas casas decimais. Sementes não danificadas serão utilizadas porque uma semente danificada liberará grandes quantidades de eletrólitos os quais influirão prejudicialmente nos resultados do teste.

As repetições são colocadas nos beckers adicionando-se 75ml de água destilada ou deionizada em cada becker.

Agita-se as sementes levemente para garantir que todas sejam completamente submersas e igualmente distribuídas. Os beckers são colocados num germinador ou incubador regulado para temperatura constante de 20°C. Após 24 horas de incubação, as sementes são agitadas suavemente e a condutividade ( $\mu\text{mhos/cm}$ ) é medida sem filtrar a solução. O eletrodo deve ser lavado em água destilada e seco com papel de filtro antes e depois de cada repetição testada.



A condutividade por grama de peso de semente é calculada e registrada na folha de informação de resultados. O número de sementes danificadas removidas das 100 sementes deve também ser registrado.

Avaliação da condutividade é feita imediatamente após a remoção das amostras do germinador. Um aumento na temperatura da solução pela colocação das amostras na temperatura ambiente resulta em leitura com valores superiores do que a 20°C. Recomenda-se que 8 a 12 beakers sejam removidos cada vez para se medir a condutividade, enquanto os demais permanecem no germinador.

O aparecimento de sementes quebradas e solução densa após a incubação, normalmente indica que a umidade da semente estava muito baixa ou que sementes danificadas não foram removidas da amostra. Se isto ocorrer, o teste deverá ser repetido após eliminar as sementes danificadas ou após o teor de umidade da semente ser ajustado para 12 a 17%.

Com objetivo de obter resultados uniformes, consistentes e reproduzíveis, especial atenção deve ser dada para os seguintes fatores os quais podem afetar o teste:

1. Pureza da água e limpeza do equipamento;
2. Uniformidade da amostra;
3. Tempo de embebição e temperatura;
4. Teor de umidade inicial, não alto demais ou baixo demais;

#### b) ASA 610 OU ASAC 1000 A

O ASA 610, é um analisador automático-eletrônico que mede a passagem de energia elétrica do exudado de cada semente, estimando assim sua qualidade. A informação, com leitura em cada uma das cem (100) células individuais, pode ser impressa ou lida diretamente em um painel digital.

Para a avaliação, as sementes devem ser embebidas previamente em água destilada deionizada por períodos de tempo variáveis, dependendo da espécie (Tabela 1).

O aparelho de preferência deve ser instalado em um local com ar condicionado, mantendo-se a temperatura entre 20 - 23°C. Variações de temperatura durante o processo de imbebição das sementes e durante a leitura causam erro na leitura. Quando não se dispõe de condicionador de ar, as bandejas para a imbebição podem ser mantidas por 18 - 24 horas em um germinador (estufa) à 20°C, realizando-se a leitura num horário em que a temperatura ambiente esteja próxima da ideal (20°C).

## PROCEDIMENTO

### a) Preparo das bandejas

As bandejas (quatro por amostra) devem ser lavadas completamente no início da operação. Caso as sementes a serem testadas estiverem sujas com solo, pó etc; deve-se efetuar uma rápida lavagem nas mesmas. A seguir, coloca-se as sementes nas bandejas de 100 células, adicionando-se água destilada e deionizada até equalização com o prato de nivelção. Em seguida, estas bandejas são mantidas à 20°C por 18 - 24 horas.

### b) Leitura

Antes da leitura deve-se ligar o aparelho deixando por cinco minutos a cabeça dos eletrodos em uma bandeja vazia (seca). Após este período, colocá-lo numa bandeja contendo água destilada e deionizada por 30 (trinta) minutos, para o aquecimento do aparelho.

Caso as análises (leituras) sejam interrompidas por algumas horas, deve-se repetir estes dois passos para se evitar distorções.

Antes do início dos testes deve-se verificar a limpeza dos eletrodos e da água deionizada empregada. Para tal, coloca-se o "Partition selector" em 008 e o prato dos eletrodos imerso em uma bandeja com a água deionizada utilizada. Após, pressiona-se o botão "activate" por 5 (cinco) segundos para a direita; efetuado a leitura no digital, que deve ser 100 (cem). Caso este valor não seja obtido, efetua-se a limpeza da bandeja e dos eletrodos adicionando-se nova água deionizada. Caso positivo (leitura 100), o aparelho está pronto para a leitura. Deve-se em seguida selecionar o valor no "Partition selector" que é pré-estabelecido para as diversas espécies (Tabela 1). Todavia, tais valores são propostos para se determinar a viabilidade e não o vigor das sementes. Para a soja, em carácter preliminar utilizou-se o valor 50 (cin-

**TABELA 1. Regulagem do equipamento e período de imbebição para diversas espécies de sementes<sup>1</sup>.**

ESPÉCIES	μOHs	Valor base p/ germinação (partition)	Tempo de Imbebição (horas)
Centeio	2	90	18-24
Milho	1	140	18-24
Milho c/tratamento	1	145	18-24
Algodão (deslintado)	0,25	55	18-24(*)
Algodão c/linte	0,25	55	18-24(**)
Sorgo	2	95	44-48
Soja	0,25	90	18-24
Girassol	0,5	100	18-24
Trigo	2	130	18-24
Rabanete	2	90	18-24
Ervilha	0,25	145	18-24
Alfafa	2	42	48
Trevo vermelho	2	105	48
Beterraba	0,5	105	48
Cebola	2	44	18-24
Cevada	2	100	18-20
Pepino	2	50	24(***)
Amendoim	0,5	50	18-24
Repolho	2	205	72

<sup>1</sup> Adaptada de: ASAC-1000 Seed Analyzer - Setup - operation - maintenance manual.

(\*) Pré-imbebição em água por 20' (vinte minutos).

(\*\*) Pré-imbebição em Turgitol 20' (vinte minutos).

(\*\*\*) Pré-imbebição em água 10' (dez minutos).

quenta) como valor de separação de vigor, obtendo-se bons resultados (Krzyzanowski & Miranda, 1990).

A leitura poderá ser feita diretamente no painel digital acionando-se a alavanca "activate" para a direita ou os números podem ser impressos em fita especial, quando a alavanca for acionada para a esquerda.

De posse dos dados impressos, faz-se o histograma correspondente à frequência de cada limite de espaço de micro-amperes. Para o digital, começa-se com 10 (dez) e aumenta-se de 5 em 5 (micro-amperes) até 100. No caso da fita impressa, torna-se mais fácil fazer o histograma, já que os valores são obtidos automaticamente.

Para a interpretação dos resultados, observa-se o histograma. A população (de sementes) que estiver à esquerda da escala, apresenta baixa condutividade, sendo portanto constituída por sementes boas, viáveis; o que estiver à direita apresenta alta condutividade sendo representada por sementes de baixa qualidade, ou inviáveis.

### Cuidados Especiais

Os eletrodos devem ser limpos depois de cada amostra analisada. Para isso, coloca-se os eletrodos numa bandeja contendo água destilada e dionizada ligando-se e desligando-se o aparelho por dez vezes sucessivas.

Ao término das análises, joga-se fora o conteúdo das bandejas (água + sementes) lavando-se repetidas vezes com água de torneira enxaguando-as em seguida. Posteriormente, as bandejas devem ser armazenadas em armários ou gavetas livres de poeira, até o próximo uso.



Com relação ao ASAC 1000, o processo é basicamente o mesmo do ASA 610. Porém, o ASAC 1000 em duas versões A e B, apresenta uma série de inovações. Além de um microcomputador embutido no aparelho, este pode ser acoplado a terminais de computador ou mesmo diretamente a um computador. Outra vantagem é a possibilidade de utilização de um "modem" (RS 232-C) podendo assim ser operado à distância.

Porém a grande vantagem reside no fato do aparelho poder ser programado para fornecer as informações de germinação e vigor além de imprimir os histogramas, facilitando assim a interpretação dos resultados.

### REFERÊNCIAS

- AGRO Sciences. The automatic seed analyzers. **Instruction Manual**. 32p. Michigan. USA. 1979.
- AGRO Sciences. Automatic seed analyzer ASAC-1000. **Instruction Manual**. 60p. Michigan. USA. 1983.
- ASSOCIATION of Official Seed Analysts. Seed vigor testing handbook. **Contribution Nº 32**. 88p. 1983.
- BEIGHLEY, O.H. & HOPPER, N.W. The relationship of chemical composition and electrical conductivity of cowpea seed to field performance. **Agronomy Abstracts** 1981:117.
- COPELAND, L.O. & McDONALD, M.B. Principles of seed science and technology. 2ª ed. Burgess Publishing Co. Minneapolis. 321p. 1985.
- HOPPER, N.W. & HINTON, M.R. The use of electrical conductivity as a measure of cotton seed quality. **Agronomy Abstracts**. 1980:109. 1980.
- INTERNATIONAL Seed Testing Association. Handbook of vigour test methods. Perry, D.A. (ed.) Zurich 72 p. 1981.
- JOO, P.K.; ORMAN, B.A.; MOUSTAFA, A.M. & HAFDAHL, M. Can leachate electro-conductivity be a useful tool for corn seed emergence potential evaluation? **Agronomy Abstracts**. 1980:109. 1980.
- KRZYZANOWSKI, F.C. & MIRANDA, Z.F.S. Relatório do Comitê de vigor da ABRATES. **Informativo ABRATES**, 1:7-26. 1990.
- MILES JR., D.F. & COPELAND, L.O. The relationship of vigor tests and field performance in soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.), **Agronomy Abstracts** 1980:111. 1980.
- McDONALD JR., M.B. & WILSON, D.O. An assessment of the standardization and ability of the ASA-610 to rapidly predict soybean germination. **Journal of Seed Technology**, 4(2):1-12. 1979.
- McDONALD JR., M.B. & WILSON, D.O. ASA-610 ability to detect changes in soybean seed quality. **Jornal of Seed Technology**. 5(1):56-66. 1980.

## V. PESO DA MATÉRIA SECA E COMPRIMENTO DE PLÂNTULA

### INTRODUÇÃO

Os procedimentos do teste de transferência de matéria seca como método de avaliação do vigor, foram desenvolvidos, objetivando avaliar as diferenças em taxas de crescimento de forma acurada e reproduzível.

O desenvolvimento da plântula tem sido utilizado como um indicativo de vigor correlacionado com a atividade metabólica da semente em processo de germinação (Woodstock e Feely, 1965; Woodstock e Grabe, 1967; Derwyn et al., 1967).

Em leguminosas, os cotilédones com suas reservas nutritivas são importantes fontes de nutrição do eixo embionário, desde o momento inicial da germinação até que a plântula se torne autotrófica. A habilidade desses órgãos para suprir a nova plântula em crescimento através da transformação das reservas em componentes solúveis utilizados na formação de novos tecidos e a incorporação desse, pelo eixo embionário parecem estar relacionados ao vigor das sementes (Dan et al., 1987).

Em lotes de semente de soja, o peso da matéria seca do eixo embionário a partir de 72 horas do início da germinação, apresentou-se como uma medida sensível na detecção de diferenças de vigor (Dan et al., 1987).

O comprimento da plântula é uma anotação que pode ser efetuada em conjunto com o teste de peso de matéria seca, e se revelou, no caso de soja, um parâmetro igualmente sensível para expressar o vigor de lotes de semente, com vantagens adicionais de facilidade na execução e simplicidade de equipamento (Dan et al., 1987).

### MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

Os testes de peso de matéria seca e comprimento de plântula requerem as condições adequadas para o teste padrão de germinação (Brasil, 1976). Em adição para a determinação do peso seco requer-se gilete para extrair o eixo embionário da plântula, recipiente para secagem, estufa termoeletrica capaz de manter 80°C por 24 horas, dessecador e balança analítica para pesar.

Para determinação do comprimento da plântula adicionalmente se requer condições mínimas para avaliar este parâmetro: mesa de trabalho e régua milimetrada.

### PROCEDIMENTOS

O procedimento básico para realização do teste de referência para peso de matéria seca e do comprimento de plântula, é o controle preciso do teste de germinação em rolo de papel toalha, com pequenas modificações.

Cada rolo será constituído de três folhas de papel toalha 28 x 37,5cm, duas embaixo das sementes e uma cobrindo as sementes.

O peso do papel toalha úmido deverá ser 2,25 vezes o seu peso seco. Por exemplo, se o papel toalha seco pesar 20g, deverá ser adicionado água até se obter 45 gramas.

Cinco sub-amostras de vinte sementes por rolo serão colocadas manualmente de acordo com a Fig. 1. A distância entre a extremidade superior do papel e a linha superior de semente deve ser de aproximadamente 2,0 cm, e a última linha deverá ficar a 25,0 cm acima da extremidade inferior.

Após a colocação das sementes o papel toalha deverá ser enrolado normalmente para o teste de germinação.

As cinco sub-amostras de cada teste serão agrupadas com atlios de borracha e colocadas em pé no germinador, fechadas com saco plástico, (ver Fig. 2) visando manter constante a umidade dos rolos. A distância entre a extremidade superior dos rolos e o fundo do saco plástico deve ser de pelo menos 15 cm, para permitir o desenvolvimento das plântulas.

Os rolos serão colocados em germinador no escuro, regulados para 25°C ± 1°C, durante sete dias.

No final desse período as plântulas serão avaliadas, registrando e descartando as anormais e as sementes mortas.

As plântulas normais, após registradas, serão medidas em milímetros e posteriormente terão seus cotilédones



removidos, e os eixos embionários de cada repetição serão colocados em vasilhas previamente pesadas (tara) para determinação de umidade, que serão postas para secar em estufa termoelétrica regulada à 80°C durante 24 horas. Após esse período as amostras serão retiradas da estufa e colocadas para esfriar em dessecadores.

As repetições, após o período de esfriamento serão pesadas com precisão de três casas decimais e o peso seco total das plântulas normais será dividido pelo número de plântulas componentes, sendo o resultado expresso de peso de matéria seca em mg/plântula.

## PROCEDIMENTOS ESPECÍFICOS PARA MILHO E SOJA.

- 1-Milho - As sementes devem ser colocadas com o embrião para cima, para facilitar o corte a ser feito na parte aérea na junção do mesocótilo, enquanto as plântulas estão unidas ao papel toalha. A parte aérea e a raiz são cortadas livres do mesocótilo. Após o corte, as raízes e parte aérea são coletadas juntamente e a determinação do teor de matéria seca é realizada. O procedimento aqui descrito combina parte aérea e raiz juntamente. Dormência não é um problema em milho, mas se ocorrer, deve ser registrado e a semente descartada.
- 2-Soja - A orientação da semente de soja não é crítica quando somente o peso da matéria seca é de interesse. Entretanto, se o comprimento da plântula também for avaliado, as sementes deverão ser posicionadas com a micropila voltada para a parte inferior do papel, para permitir um desenvolvimento uniforme e retilíneo da radícula e do hipocótilo. As plântulas de soja também poderão ser separadas em raiz e parte aérea através do corte na junção do hipocótilo com a radícula. Deve-se assegurar que os cotilédones sejam removidos, pois sua inclusão no peso da plântula não permite a avaliação do vigor porque somente tamanho da semente e respiração podem alterar o peso da semente quando os cotilédones são incluídos (AOSA, 1986).

## INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

O teste de peso de matéria seca da plântula é um indicador confiável e sensível do desenvolvimento vegetativo inicial da plântula a nível de campo. Ele não está relacionado com a porcentagem de emergência, devido a uma série de fatores que afetam a emergência, os quais não podem ser controlados ou duplicados em laboratório. Este teste é capaz de selecionar pequenas diferenças em vigor de sementes devido ao genótipo, tamanho da semente, local de produção e outros fatores.

Os resultados devem ser interpretados dentro de cada genótipo. Este teste é bem confiável se seguido precisamente. Entretanto, ele é sensível ao teor de umidade. Umidade excessiva é frequentemente encontrada nos testes padrão de germinação. O objetivo é ter umidade adequada para iniciar e manter a germinação pelo período de sete dias. Se o procedimento de umedecimento do papel for seguido e espaço adequado no germinador for oferecido, umidade excessiva não deverá se constituir em problema.

O controle preciso da temperatura deverá ser observado devido a natureza do teste. O sistema de germinação no escuro busca prevenir que o calor extra gerado pela luz não venha afetar o controle de temperatura nas embalagens plásticas.

O envolvimento dos rolos de germinação em sacos plásticos é necessário, tendo em vista a impossibilidade de atingir satisfatoriamente a temperatura e o controle de umidade num sistema aberto sem considerar o controle de umidade da câmara.

Exemplos e interpretação de resultados de peso de matéria seca.

1. a) Sementes postas a germinar : 100
- b) Sementes mortas..... : 4
- c) Plântulas anormais ..... : 6
- d) Plântulas normais..... : 90
- e) Peso seco das plântulas ... : 5.400 mg
- Peso seco por plântulas.... :  $5.400/90 = 60$  mg/plântula

2. a) Sementes postas a germinar : 100  
b) Sementes mortas..... : 15  
c) Plântulas anormais ..... : 19  
d) Plântulas normais..... : 66  
e) Peso seco das plântulas ... : 3.960 mg  
Peso seco por plântulas.... :  $3.960/66 = 60$  mg/plântula
3. a) Sementes postas a germinar : 100  
b) Sementes mortas..... : 6  
c) Plântulas anormais ..... : 4  
d) Plântulas normais..... : 90  
e) Peso seco das plântulas ... : 3.600 mg  
Peso seco por plântulas.... :  $3.600/90 = 40$  mg/plântula

No exemplo 1 temos um lote de alto vigor exibindo uma elevada germinação. No exemplo 2 temos um lote com baixa germinação e alto vigor o que é um indicativo de uma situação onde uma grande proporção de dano mecânico existe e é a causa responsável pelo elevado número de sementes mortas, enquanto que as remanescentes são de boa qualidade. Isto também pode ser indicativo de caldeamento de lotes, onde sementes de baixa qualidade foram misturadas com sementes de boa qualidade.

O exemplo 3 ilustra uma situação freqüentemente encontrada com sementes velhas sobre a capacidade de germinação, que ainda existe, mas o vigor é baixo. Isto pode também ocorrer com sementes novas se forem produzidas em condições desfavoráveis.

## REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS - AOSA. Seed Vigor Testing Handbook. s.l., 1983. 88p. (Handbook on Seed Testing, 32).
- DAN, E.L.; MELLO, V.D.C.; WETZEL, C.T.; POPINIGS, F. & ZONTA, E.P. Transferência de matéria seca como método de avaliação do vigor de sementes de soja. **Rev. Bras. Sem.**, 9(3):45-55. 1987.
- DERWYN, R.; WHALLEY, B. & McKELL, C.M. Interrelation of carbohydrate metabolism, seedling development, and seedling growth rate of several species of *Phalaris*. **Agron. J.** 59:223-226. 1967.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Regras para Análise de Sementes. Brasília, DF., 1976. 188p. (Portaria do M.A. nº 532 de 28/07/76. DISEM/DNPV.)
- WOODSTOCK, L.W. & FEELEY, J. Early seedling growth and initial respiration rates as potential indicator of seed vigor in corn. **Proc. Assoc. Off. Seed Anal.** 55:131-139. 1965.
- WOODSTOCK, L.W. & GRABE, D.F. Relationship between seed respiration during imbibition and subsequent seedling growth in *Zea mays* L. **Plant Physiology.** 42:1071-1076. 1967



### FOLHAS DE PAPEL TOALHA UMIDO

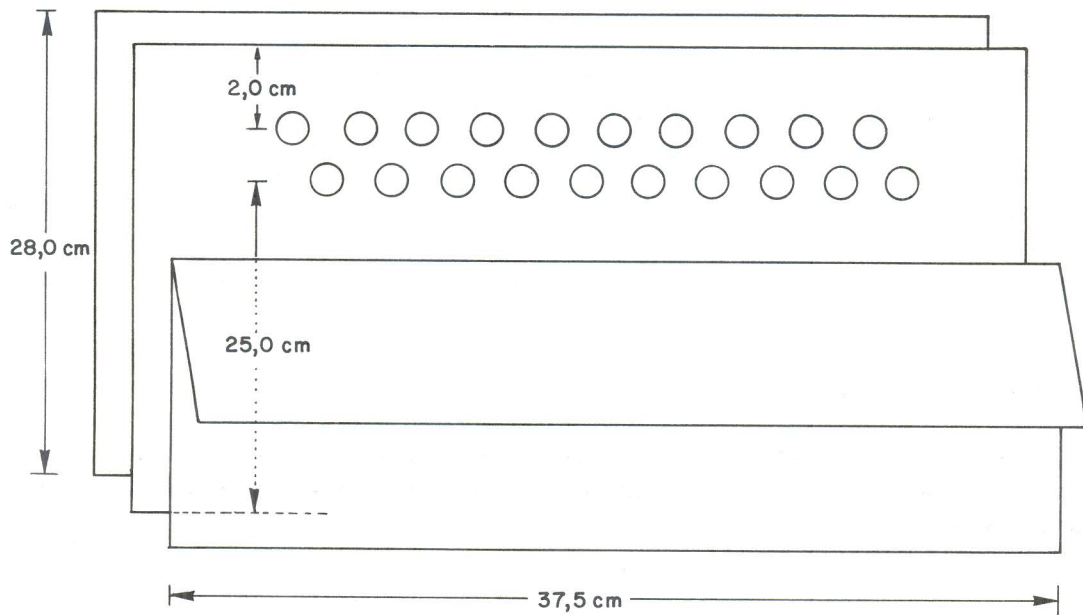


FIGURA 1. Orientação e espaçamento das sementes sobre o papel toalha para condução dos testes de peso de matéria seca e comprimento de plântula.

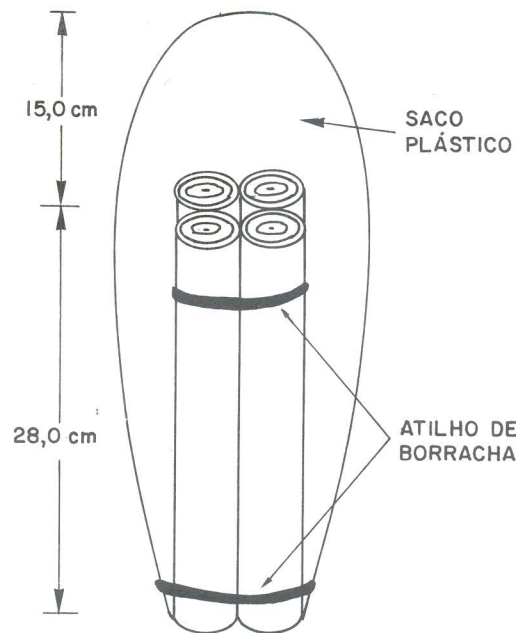


FIGURA 2. Acondicionamento dos rolos de germinação com saco plástico para condução dos testes de peso da matéria seca e comprimento de plântulas.

## VI. CLASSIFICAÇÃO DO VIGOR DA PLÂNTULA

Sementes de algodão, amendoim, feijão e soja produzem plântulas que têm quatro partes importantes para avaliação do vigor da plântula: 1) sistema radicular, 2) hipocótilo, 3) cotilédones e 4) epicótilo.

As regras para Análise de Sementes (Brasil, 1976) descrevem plântulas normais e anormais em detalhes bem como as deficiências ou irregularidades as quais a plântula possa ter e ainda ser considerada normal.

Algumas irregularidades ou deficiências que contribuem para o baixo vigor ou reduzir a qualidade podem ficar obscuras no total de plântulas normais. A classificação dessas plântulas em duas categorias, fortes e fracas, proporciona meios de distinguir entre lotes de sementes que possuem deficiências e lotes de sementes livres de injúrias.

### MATERIAIS E EQUIPAMENTO

Considerando que o teste de classificação de vigor da plântula é baseado no teste padrão de germinação, não é necessário equipamento e suprimento adicional além daqueles normalmente encontrados num laboratório de análise de rotina para semente.

### PROCEDIMENTO

Todos os procedimentos serão conduzidos de acordo com as especificações descritas nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1976). Oito repetições de 50 sementes cada uma serão colocadas sobre duas folhas de papel toalha úmido, coberto com uma folha adicional úmida do mesmo papel, e levadas para germinar à temperatura de 25°C no escuro ou com luz. Germinadores com luz promovem um rápido crescimento do epicótilo.

O peso do papel toalha úmida deve ser 2,25 vezes o seu peso seco e a umidade deve ser mantida num nível ótimo durante o período do teste.

A avaliação de plântulas normais deve ser feita como especificadas nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1976), as quais serão então, classificadas nas categorias fortes ou fracas de acordo com as seguintes prescrições:

#### 1- Soja (*Glycine max* (L.) Merrill.)

Na primeira contagem (5 dias), todas as plântulas que tenham completadas as partes morfológicas sem rachaduras ou lesões serão removidas e anotadas como fortes. Todas as sementes em estado de putrefação serão removidas e anotadas. Plântulas que não preencham os critérios estabelecidos para plântulas normais fortes permanecerão no teste até a contagem final.

Na contagem final (8 dias), todas as plântulas remanescentes serão classificadas como normal ou anormal de acordo com as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1976). As plântulas normais serão então classificadas em fortes ou fracas com base no seguinte critério para plântulas fracas (Fig. 1 a 14).

- Raiz primária faltando;
- Hipocótilo - com rachaduras, lesões, necroses, torcido ou enrolado.
- Cotilédones - falta de um cotilédone ou necrose em um ou ambos cotilédones.
- Epicótilo - parcialmente apodrecido ou com uma folha primária faltando.
- Total da plântula - comprida e fina, pobremente desenvolvida ou raquítica

#### 2- Algodão (*Gossypium hirsutum* L.)

Na primeira contagem (4 dias), todas as plântulas que tenham completado as partes morfológicas sem rachaduras ou lesões serão removidas e anotadas como fortes. Todas as sementes em estado de putrefação serão removidas e anotadas. Plântulas que não preencham os critérios estabelecidos para plântulas normais fortes permanecerão no teste até a contagem final. Na contagem final, (12 dias), todas as plântulas remanescentes serão classificadas como normal ou anormal de acordo com as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1976). As plântulas normais se-



rão classificadas em fortes ou fracas com base no seguinte critério para plântulas fracas (Fig. 15).

- Raiz primária faltando ou curta e grossa
- Hipocótilo - com rachaduras, lesões, necroses, torcido ou enrolado
- Cotilédone - falta de um cotilédone ou necrose em um ou ambos cotilédones.

### 3- Amendoim (*Arachis hypogaea*)

Na primeira contagem (5 dias), todas as plântulas que tenham completado as partes morfológicas sem rachaduras ou lesões serão removidas e anotadas como fortes. Todas as sementes em estado de putrefação serão removidas e anotadas. Os cotilédones devem ser separados para permitir observação do epicótilo e tecido cotiledonar interno na primeira contagem. Se o epicótilo está escurecido, ou necrose é observada na superfície interna do cotilédone, a plântula deve ser classificada como fraca ao menos que seja considerada anormal baseada nas RAS - Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1976). Epicótilos escurecidos ou necrose no tecido interno dos cotilédones podem ser causados por deficiência de cálcio ou boro.

Na contagem final (10 dias), todas as plântulas remanescentes serão classificadas como normal ou anormal de acordo com as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1976). As plântulas normais serão classificadas em fortes ou fracas com base no seguinte critério para plântulas fracas (Fig. 16).

- Raiz primária quebrada, partida ou faltando
- Hipocótilo - com rachaduras, lesões, necroses, torcido a enrolado.
- Cotilédone - falta de um cotilédone ou necrose em um ou ambos cotilédones.
- Epicótilo - parcialmente apodrecido ou uma folha primária faltando.
- Aspecto geral da plântula - afilada, pobremente desenvolvida ou curta e fraca.

A semente de amendoim pode apresentar dormência. O laboratório pode utilizar as prescrições previstas para a quebra de dormência e depois efetuar o teste de classificação de vigor das plântulas.

### 4- Feijão (*Phaseolus vulgaris*)

Uma única contagem (8 dias) será realizada. Todas as plântulas serão classificadas em normal ou anormal de acordo com as RAS - Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1976). As plântulas normais serão classificadas em fortes e fracas, com base nos seguintes critérios para plântulas fracas. (Fig. 17).

- Raiz primária faltando
- Hipocótilo com rachaduras, lesões, necroses ou rachaduras cicatrizadas.
- Cotilédones - menos de dois completos.
- Epicótilo pobremente desenvolvido ou uma folha primária faltando.
- Aspecto geral da planta - afilada, pobremente desenvolvida ou curta e fraca.

## INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

Plântulas anormais são geralmente consideradas como tendo pequena chance de produzir planta normal. Da mesma forma, a classificação do vigor da plântula é baseada na premissa que plântulas fracas, mas normais, têm menores condições de emergir sob condições de campo adversas do que plântulas normais fortes.

Dessa forma este teste de vigor suporta a condição de subdividir a categoria de plântulas normais estabelecida nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1976) numa classificação de forte e fraca que capacita uma melhor interpretação do potencial de emergência no campo do lote de semente em teste.

De grande importância é que, esta informação é obtida do teste padrão de germinação o qual qualquer laboratório de análise de semente está equipado para conduzir.

Os resultados do teste podem ser relatados da seguinte forma:

Plântula Normal Forte %	Plântula Normal Fraca %	Total de Plântulas Normais % Germinação	Plântula Anormais %	Sementes Mortas %	Sementes duras ou dormentes %
-------------------------	-------------------------	--	---------------------	-------------------	-------------------------------

O teste de classificação de vigor de plântula é um teste muito subjetivo.

Falta de cuidados na sua condução pode afetar a precisão de interpretação de plântulas fortes e fracas. A atividade de microorganismo também afeta esta avaliação. O tratamento de semente pode ser uma medida auxiliar para controlar esta fonte de variação e melhorar a sensibilidade do teste.

Este teste tem um grande potencial de aplicação em outras espécies além das dicotiledôneas como descrito.

### REFERÊNCIAS

AOSA. Seed Vigor Testing Handbook. Contribution nº 32 to The Handbook on Seed Testing. 93p. 1983. Revised. 1986.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Regras para Análise de Sementes. Brasília, DF., 1976. 188p. (Portaria do M.A. nº 532 de 28/07/76. SISEM/DNPV).

- Raiz primária faltando.

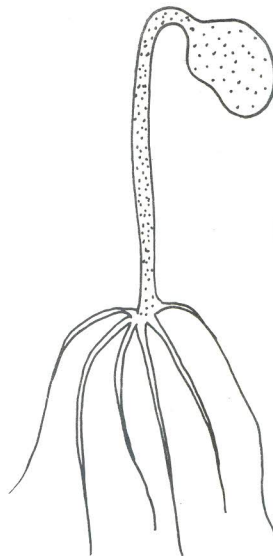
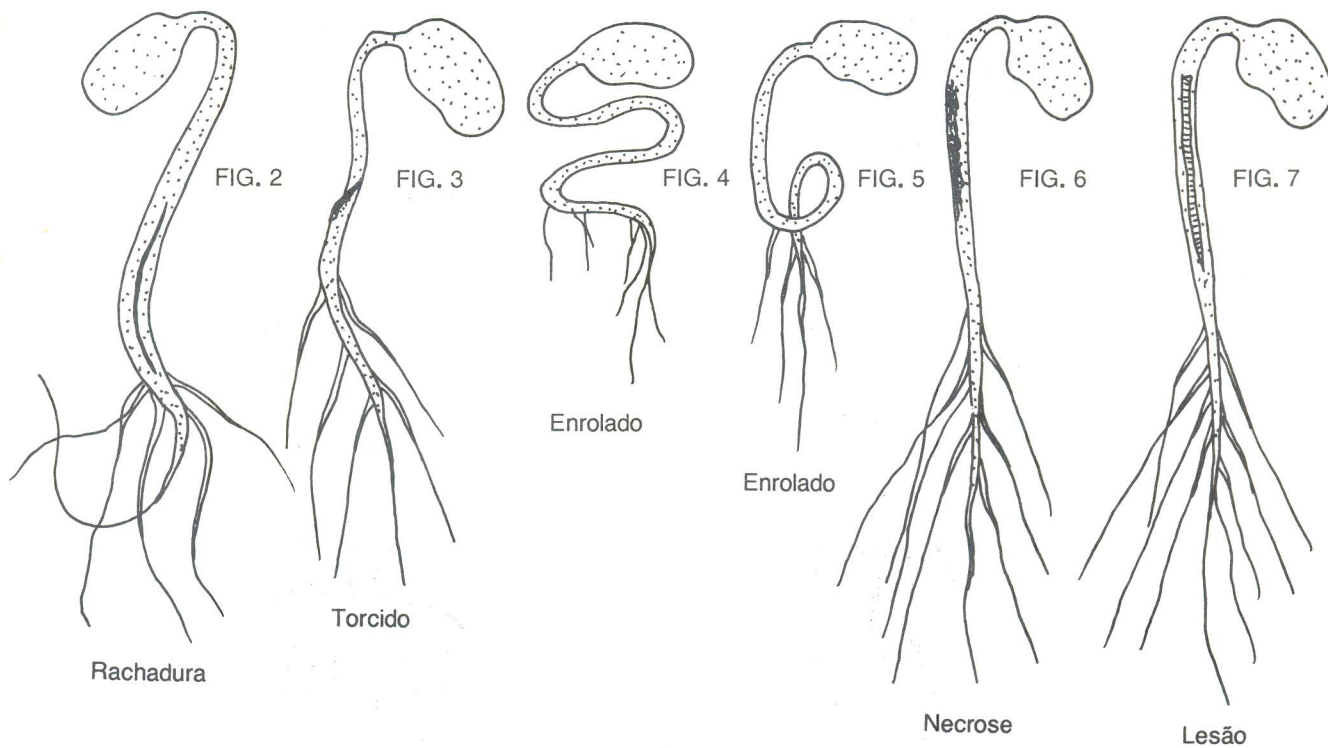


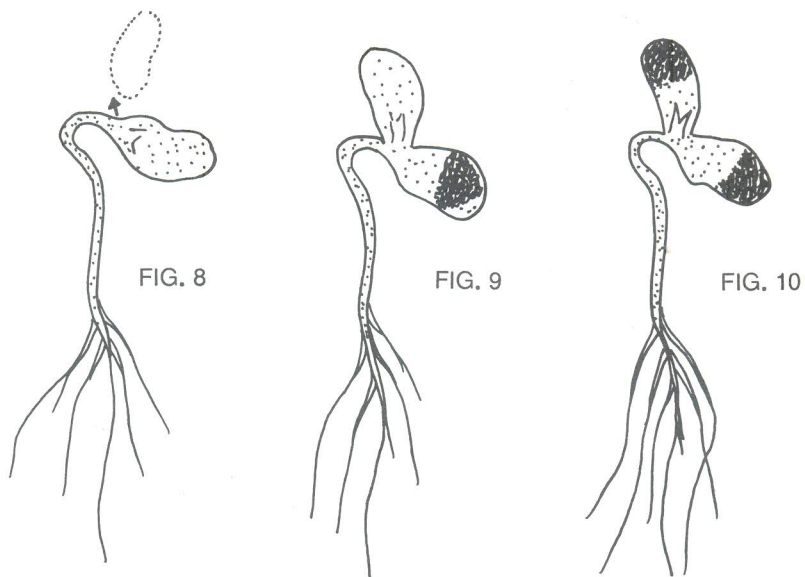
FIG. 1



- Epicótilo - parcialmente apodrecido ou com uma folha primária faltando.



- Cotilédones - falta de um cotilédone ou necrose em um ou ambos os cotilédones.



- Hipocótilo - com rachaduras, lesões, necroses, torcido ou enrolado.

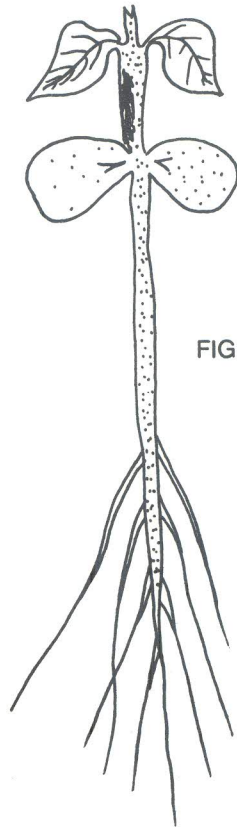


FIG. 11

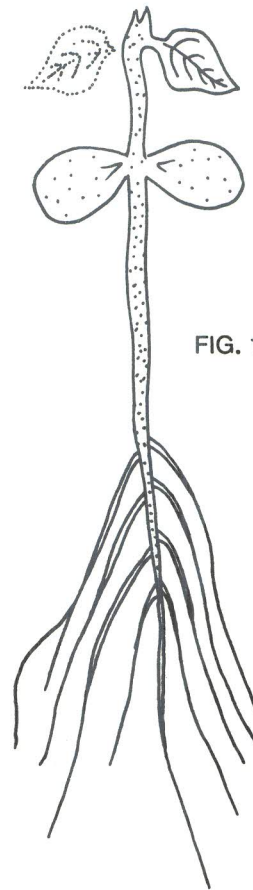


FIG. 12

- Total de plântula - comprida e fina, pobremente desenvolvida ou raquítica.



FIG. 13

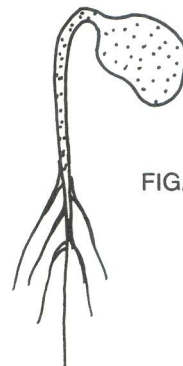


FIG. 14



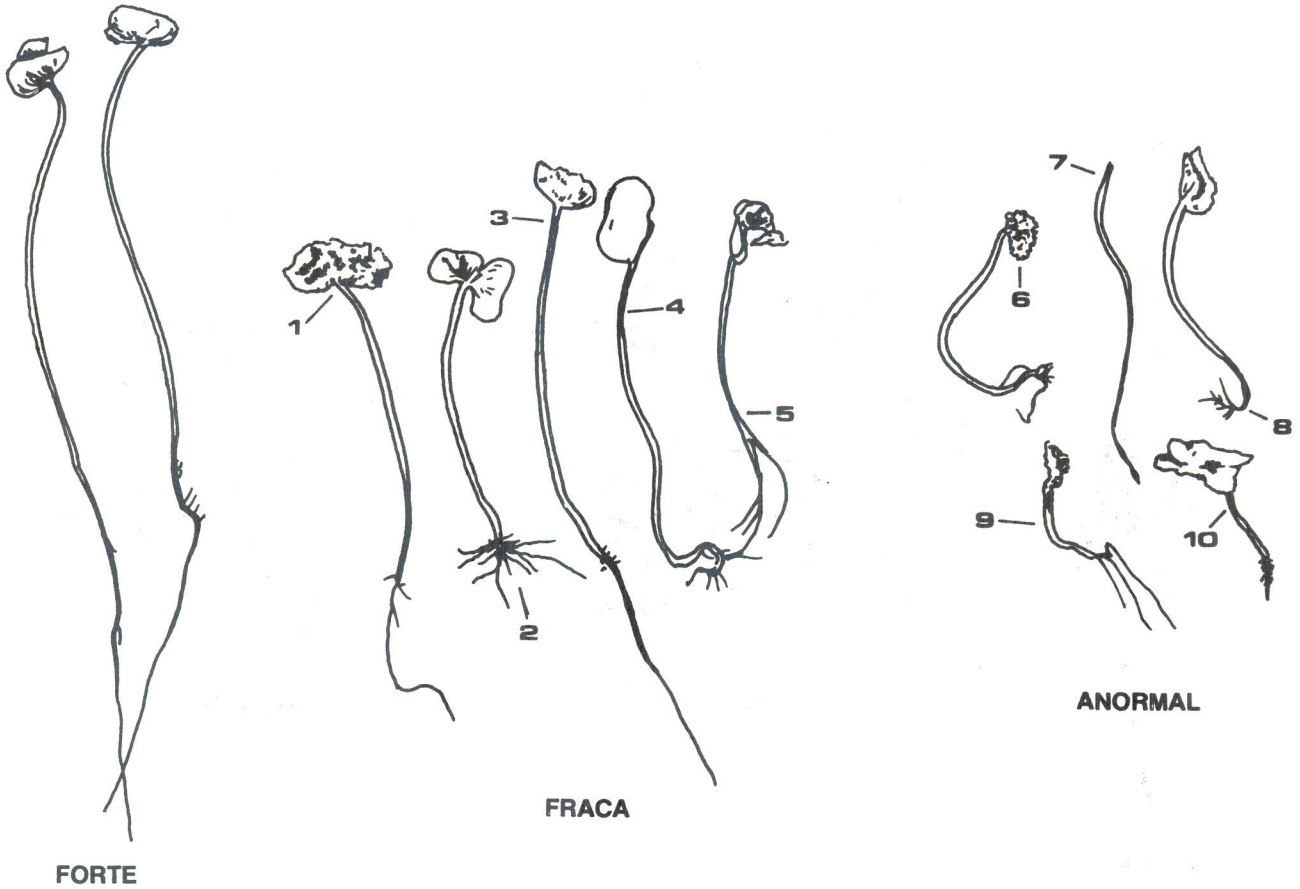


FIG. 15 - Algodão - teste de classificação de vigor de plântulas. Grupo de plântulas da direita para a esquerda são: normal forte, normal fraca e anormal. Deficiências das plântulas normais fracas são: 1. necrose do cotilédone; 2. raiz primária curta e fraca; 3. um cotilédone apenas; 4. hipocótilo necrosado; 5. sem raiz primária. Deficiências das plântulas anormais são: 6. cotilédones e hipocótilo apodrecidos; 7. sem cotilédones; 8. sem raiz primária e raiz secundária fraca; 9. hipocótilo danificado; 10. hipocótilo curto.

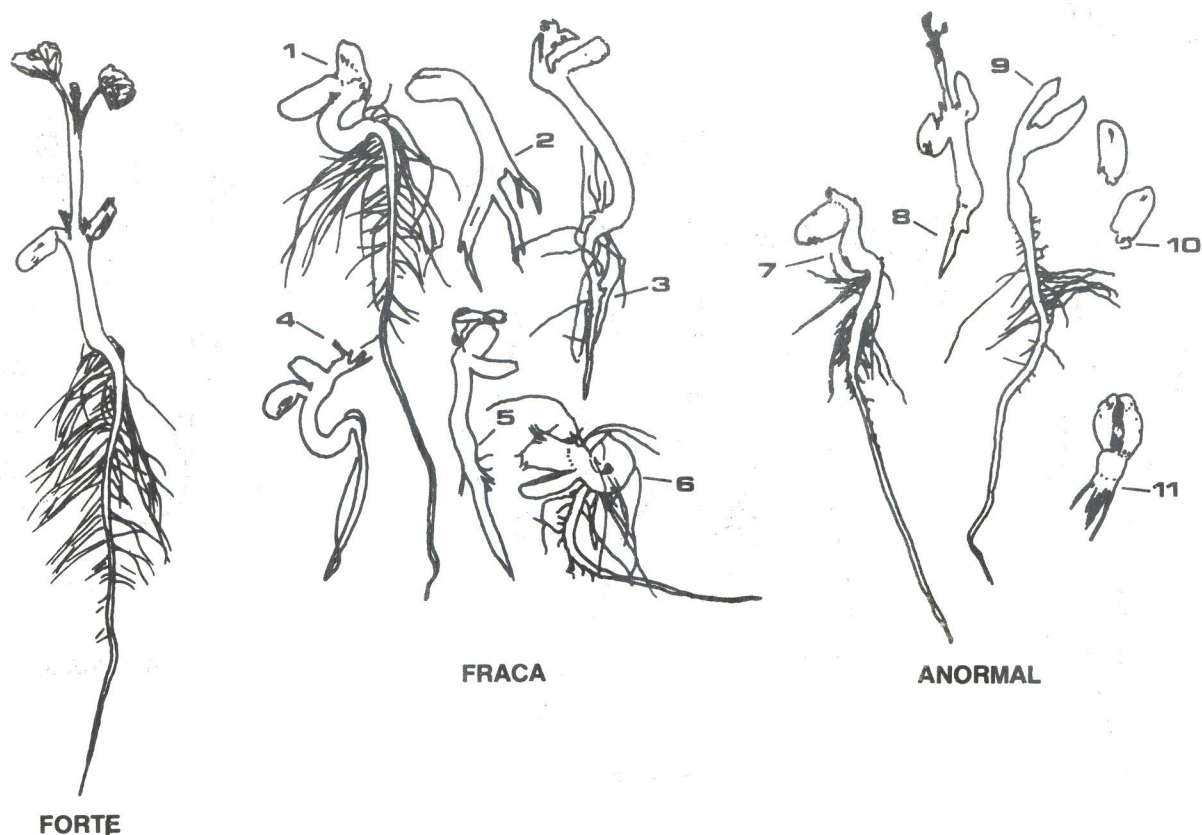


FIG. 16 - Amendoim - teste de classificação de vigor de plântulas. Grupo de plântulas da direita para esquerda são: normal forte, normal fraca e anormal. Deficiências das plântulas normais fracas são: 1. epicótilo parcialmente apodrecido; 2. sem raiz primária; 3. raiz primária trincada; 4. faltando uma folha primária; 5. raiz primária partida; 6. hipocótilo enrolado. Deficiências das plântulas anormais são: 7. hipocótilo curto; 8. raiz primária curta e fraca e sem raiz secundária; 9. sem epicótilo; 10. faltando hipocótilo e radícula; 11. hipocótilo e radícula pouco desenvolvidos.



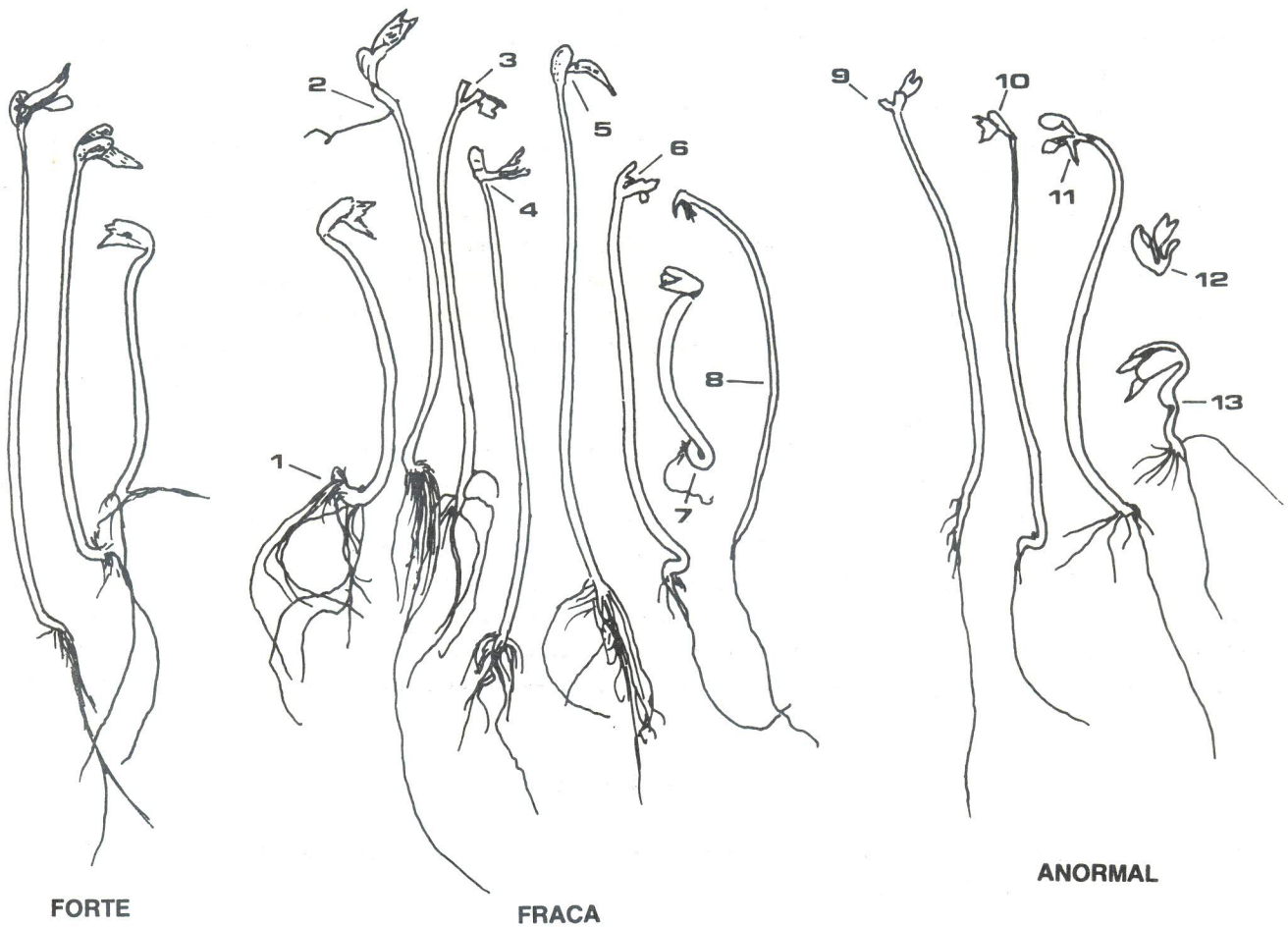


FIG. 17 - Feijão - teste de classificação de vigor de plântulas. Grupo de plântulas da direita para a esquerda são: normal forte, normal fraca e anormal. Deficiências das plântulas normais fracas são: 1. sem raiz primária; 2. hipocótilo fendilhado e restaurado na parte superior; 3. cotilédones quebrados com metade ou mais do tecido original presente; 4. somente um cotilédone; 5. faltando uma folha primária; 6. epicótilo pouco desenvolvido; 7. raiz primária faltando; 8. plântula delgada e mal desenvolvida. Deficiências das plântulas anormais são: 9. dois cotilédones quebrados com menos da metade do tecido original presente; 10. menos que um cotilédone completo; 11. sem epicótilo; 12. sem hipocótilo e sem radícula; 13. hipocótilo malformado.

## VII. TESTE DE GERMINAÇÃO A BAIXA TEMPERATURA

Este teste difere do teste frio apesar de ser conduzido a baixa temperatura (18°C) uma vez que não é levado em consideração o efeito adverso dos microrganismos do solo. Tem-se observado que sementes de culturas de verão, como o algodão por exemplo, apresentam germinação reduzida e menor taxa de crescimento de plântulas, nessas condições (Copeland & McDonald, 1985).

Apesar do teste de germinação a baixa temperatura ter sido inicialmente desenvolvido para a cultura do algodão, o mesmo vem sendo também utilizado para sementes de sorgo e pepino (Hosh, 1983). Quanto a sua utilização para a cultura da soja, pouco tem sido feito. A maior parte dos trabalhos relatam efeitos negativos da germinação a baixa temperatura, como o "chilling injury", que resulta em anormalidades (ruptura transversal dos cotilédones e engrossamento do hipocótilo). Todavia, o efeito da temperatura e da qualidade da semente na taxa de alongação diária do hipocótilo e emergência da soja segundo Prokati (1979) foi evidente. Tal fato sugere que o teste de germinação à baixa temperatura poderá, em parte, fornecer alguma informação quanto ao vigor da semente e inferir até certo ponto seu desempenho à campo quando a semente for efetuada em solo com baixas temperaturas. Porém, vale salientar que a presença dos microrganismos no solo poderá resultar em baixa correlação com os resultados de germinação à baixa temperatura no laboratório, onde o efeito desses agentes não é levado em conta.

Para o algodão, as sementes são mantidas na escuridão por sete dias a uma temperatura constante de 18°C. Após esse período a avaliação das plântulas normais é feita seguindo-se o mesmo critério do teste padrão de germinação. Tal fato, segundo Copeland & McDonald (1985) constitui-se na principal vantagem do teste. Segundo Arndt (1932), a temperatura mínima para a germinação de algodão é 15°C. Porém, a germinação a baixas temperaturas pode resultar em injúrias na radícula (Christiansen, 1963) e taxa reduzida de alongamento do hipocótilo (Christiansen, 1964). No teste, serão consideradas vigorosas as plântulas que possuem quatro centímetros ou mais de comprimento após os sete dias de germinação no escuro à 18°C (AOSA, 1983). Variabilidade genética no teste de germinação a baixa temperatura tem sido observada (Buxton & Springer, 1976) e não sabe-se ainda se o teste é adequado a todas as cultivares de algodão.

## REFERÊNCIAS

- ARNDT, C.M. A study of some of the factors that may influence cottonseed germination and seedling growth. S.C. Agr. Exp. Sta. 45th. Ann. Rept. p.46-49. 1932.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. Seed vigor testing handbook. Contribution nº. 32. 88p. 1983.
- BUXTON, D.R. & P.J. SPRENGER. Genetic variability for cotton seed germination at favorable and low temperatures. **Crop. Sci.** 16:243-246.
- COPELAND, L.O. & McDONALD, M.B. Principles of seed science and technology. 2a. ed. Burgess Publishing Co. Minneapolis. 321p. 1985.
- CHRISTIANSEN, M.N. Influence of chilling upon seedling development of cotton. **Plant Physiol.** 38:520-522. 1963.
- CHRISTIANSEN, M.N. Influence of chilling upon subsequent growth and morphology of cotton seedlings. **Crop. Sci.** 4:584-586.
- PROKATI, W. Effects of temperature and seed quality upon rate of hypocotyl elongation in selected soybean cultivars. Mississippi State, MS. 1979. 63p. (Tese de Mestrado)