

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**CONDUTIVIDADE ELÉTRICA MASSAL,
INDIVIDUAL E AVALIAÇÕES CITOGENÉTICAS
PARA DETERMINAÇÃO DO VIGOR DE
SEMENTES DE TRIGO**

TESE DE DOUTORADO

Vanessa Ocom Menezes

Santa Maria, RS, Brasil.

2013

**CONDUTIVIDADE ELÉTRICA MASSAL, INDIVIDUAL E
AVALIAÇÕES CITOGENÉTICAS PARA DETERMINAÇÃO
DO VIGOR DE SEMENTES DE TRIGO**

Vanessa Ocom Menezes

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia,
da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como
requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Sidinei José Lopes

Santa Maria, RS, Brasil.

2013

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Menezes, Vanessa Ocom

Condutividade elétrica massal, individual e avaliações citogenéticas para determinação do vigor de sementes de trigo / Vanessa Ocom Menezes.-2013.

147 p.; 30cm

Orientador: Sidinei José Lopes

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2013

1. Triticum aestivum L. 2. Testes de vigor 3. Condutividade elétrica massal 4. Condutividade elétrica individual. Padronização de metodologia 5. Análises citogenéticas. Tamanho de amostra I. Lopes, Sidinei José II. Título.

©2013

Todos os direitos autorais reservados a Vanessa Ocom Menezes. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização da autora.

Endereço Eletrônico: vane_menezes@yahoo.com.br

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

**CONDUTIVIDADE ELÉTRICA MASSAL, INDIVIDUAL E
AVALIAÇÕES CITOGENÉTICAS PARA DETERMINAÇÃO DO
VIGOR DE SEMENTES DE TRIGO**

Elaborada por
Vanessa Ocom Menezes

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Agronomia

Comissão examinadora:

Sidinei José Lopes Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Liliane Marcia Mertz Henning, Dra. (EMBRAPA)

Géri Eduardo Meneghello, Dr. (UFPel)

Solange Bosio Tedesco, Dra. (UFSM)

Antonio Carlos Ferreira da Silva, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 25 de julho de 2013.

**À Deus pela vida e força e a Nossa Senhora, minha mãe, pela poderosa
intercessão.**

Ofereço.

Dedicatórias são sempre para pessoas especiais.

Á você, Júlia, minha filha,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

“A gratidão é o único tesouro dos humildes.”

(William Shakespeare)

Sem dúvida, são muitos os agradecimentos a fazer:

Primeiramente e, acima de tudo, à Deus e ao meu anjo da guarda, que me deram força e fé para sempre superar qualquer obstáculo (e foram muitos), com certeza, sem eles, eu não estaria aqui.

À minha filha, Júlia, por entender as minhas ausências e por eu estar “sempre ocupada”. Meu amor maior e força de inspiração!
Te amo!

À minha avó, Alcinda, que mais do que avó, sempre foi mãe e, ao meu avô, Alcir (*in memorium*), que, da mesma forma, foi pai. Pois, através deles que eu obtive o sustento para sempre poder estudar e chegar aonde eu sempre sonhei.

Aos meus pais, Alcery e Marlene, que, mesmo muito humildes e, praticamente sem entender o que eu fazia, estiveram ali, como puderam.

Ao meu orientador, Sidinei, pela confiança e por receber sempre com um grande sorriso e boa vontade, além de resolver sempre tudo que precisei.

À Liliane, minha co-orientadora, mais do que especial, que me “deu a mão”, quando eu mais precisei, sem, ao menos, me conhecer. Jamais esquecerei!

À Solange, professora desde minha graduação, patronese da turma de Ciências Biológicas, a qual, me conferiu o grau de bióloga, mas, também, se tornou uma grande amiga, e me apoiou no momento da qualificação e também com sua co-orientação.

Ao professor e amigo Antonio Carlos, também, de longa data, meu primeiro orientador de iniciação científica, o qual acompanhou o meu trabalho de mestrado, foi indispensável no momento da minha qualificação de doutorado e agora faz parte da minha banca examinadora de defesa de tese.

Ao meu grande amor, meu namorado, Diego e ao meu amado, João Vitor. Também, foi por nós que eu fui até o fim. Amo, infinito!

À dona Ivone e seu Urley, pessoas, mais que especiais, não tenho palavras para agradecer o quanto me ajudaram quando me disponibilizaram sua casa para eu ficar hospedada, no período de escrever a qualificação.

À amiga-irmã, Josy Monteiro, que sempre esteve presente, dando apoio e ajudando quando tive medos. Sempre com uma palavra amiga e de coragem. Mulher guerreira!

À Ana Paula Estevo, amiga que surgiu na minha vida em um momento muito importante, sempre paciente e com palavras de incentivo. Sem você, eu também não conseguiria. Outra mulher guerreira!

Às demais amigas (os), que de alguma forma, colaboraram para que meu trabalho fosse concluído, Clarissa, Aline, Liana, Bibiana, Luciane, Rafael, Guilherme, Rodrigo. Vocês são demais!

Aos colegas de laboratório, em especial, Ana Paula e Humberto. Mas sempre lembrando dos demais: Gerusa, Caroline, Fabrício, Manoela, Ingrid., Samantha, Carina.

Aos funcionários do laboratório, Nilson, seu Alberto e dona Vera.

À CAPES, pelo auxílio financeiro a minha pesquisa.

À Pós-graduação e ao professor Jerônimo, atual coordenador, o qual não mediu esforços no momento conturbado da minha qualificação.

MUITO OBRIGADA!

**“Suba o primeiro degrau com fé.
Não é necessário que você veja toda a escada,
apenas dê o primeiro passo”.**

Martin Luther King Jr

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria

CONDUTIVIDADE ELÉTRICA MASSAL, INDIVIDUAL E AVALIAÇÕES CITOGENÉTICAS PARA DETERMINAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES DE TRIGO

AUTOR: VANESSA OCOM MENEZES

ORIENTADOR: SIDINEI JOSÉ LOPES

Local e Data: Santa Maria/RS, 25 de julho de 2013.

A qualidade das sementes utilizadas em qualquer cultivo agrícola é um dos fatores importantes para obtenção de um número de plantas ideal e alta produtividade. A avaliação do potencial fisiológico das sementes é essencial aos programas de controle de qualidade empregados por empresas produtoras e, essa avaliação é realizada através de testes de vigor. Estudos citogenéticos também fornecem informações sobre a qualidade das sementes, permitindo identificar anomalias que comprometem o vigor. Para obtenção de resultados precisos em experimentos para qualidade de experimentos. Desse modo, os objetivos desse estudo foram determinar e padronizar metodologias para os testes de condutividade elétrica massal e individual visando a determinação da qualidade fisiológica de sementes de trigo; detectar alterações citogenéticas e fisiológicas que ocorrem durante o processo de deterioração das sementes submetidas ao envelhecimento artificial; e determinar o tamanho de amostra, em número de sementes, para a estimação da média de condutividade elétrica individual em diferentes tempos de embebição. Foram utilizadas cinco cultivares de trigo: Fundacep Horizonte, Fundacep Campo Real, Quartzo, Mirante e Ônix, subdivididas em dois sublotos de sementes para cada cultivar (alto e baixo vigor) através da metodologia do envelhecimento acelerado. Cada lote foi avaliado fisiologicamente pelas determinações do teste de germinação e testes de vigor. Posteriormente, as sementes foram submetidas aos testes a serem padronizados: condutividade elétrica massal e condutividade elétrica individual, por nove períodos de imersão (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas). Para as análises citogenéticas, foram utilizadas sementes das cultivares Fundacep Campo Real e Ônix, submetidas ao processo de envelhecimento acelerado por zero, 24, 48, 72, 96 e 120 horas, à 42°C e 100% de UR. Determinações fisiológicas também foram efetuadas e as análises citogenéticas foram realizadas através de técnicas convencionais, como observação dos cromossomos e índice mitótico. Para determinar o tamanho de amostra, realizou-se um processo iterativo de reamostragem com 1000 reamostragens, com reposição, utilizando diferentes tamanhos de amostras, iniciando com uma semente e acrescentando uma semente em cada interação até o tamanho máximo de 400 sementes. Os resultados obtidos revelaram que o teste de condutividade elétrica individual foi eficiente para a separação dos lotes de sementes de trigo e a melhor combinação foi a utilização de 25mL de solução de embebição e amostras de 75 sementes, nos períodos de 8 e 24 horas e, que o teste de condutividade elétrica individual foi eficiente para a determinação do vigor das sementes de trigo com a possibilidade de leitura com período reduzido de uma hora de embebição das sementes. A deterioração das sementes causada pelo envelhecimento acelerado tem relação com a diminuição do potencial germinativo e de vigor das sementes de trigo das cultivares Campo Real e Ônix; o estresse causado pelo envelhecimento acelerado nas sementes de ambas as cultivares leva a drástica redução no índice mitótico e, o envelhecimento acelerado leva ao aumento da frequência de anomalias cromossômicas, porém com respostas distintas para as cultivares analisadas, possivelmente, vinculado a efeito genotípico. A amostragem, em número de sementes de trigo, para avaliar a condutividade elétrica individual é de 44 sementes; para lotes em que não foram aplicados o envelhecimento acelerado, é de 27 sementes; para lotes envelhecidos artificialmente, para amplitudes de 3 a 5 $\mu\text{S cm}^{-1}$ semente⁻¹, para tempos de embebição das sementes de uma a 24 horas.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L.. Testes de vigor. Condutividade elétrica massal. Condutividade elétrica individual. Padronização de metodologia. Análises citogenéticas. Tamanho de amostra.

ABSTRACT

Doctorate Thesis
Agronomy Post-graduation Program
Universidade Federal de Santa Maria

MASS AND INDIVIDUAL ELECTRICAL CONDUCTIVITY AND CYTOGENETIC EVALUATIONS FOR VIGOR DETERMINATION OF WHEAT SEEDS

AUTHOR: VANESSA OCOM MENEZES

ADVISOR: SIDINEI JOSÉ LOPES

Place and Date: Santa Maria/RS, July 25th, 2013.

The quality of the seeds used in any agricultural cultivation is one of the important factors for the obtaining of a number of ideal plants and high productivity. The evaluation of the physiological potential of the seeds is essential to the quality control programs utilized by producing companies and this evaluation is realized through vigor tests. Cytogenetic studies also provide information about the quality of the seeds, allowing to identify anomalies that compromise the vigor. For the obtainment of precise results in agricultural experiments, the determination of the samples' size to be used is one of the main quality components of the experiments. Thereby, the objectives of this study aimed to determine and standardize the methodologies of the mass and individual electric conductivity tests for the physiological quality of the wheat seeds; detect cytogenetic and physiological alterations that occur during the deterioration process of the seeds submitted to the artificial aging and estimate the sample size, in number of seeds, for the average estimation of individual electric conductivity in different times of soaking. Five varieties of wheat seeds were used: *Fundacep Horizonte*, *Fundacep Campo Real*, *Quartzo*, *Mirante* and *Ônix*, subdivided into two subgroups of seeds for each variety (high and low vigor) through the methodology of accelerated aging. Each group was evaluated physiologically by the determinations of germination tests and vigor tests. Later on, the seeds were submitted to the tests to be standardized: mass electric conductivity and individual electric conductivity, in nine soaking periods (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, and 24 hours). For the cytogenetic analysis, the seeds from the varieties *Fundacep Campo Real* and *Ônix* were used. They were submitted to the accelerated aging process by zero, 24, 48, 72, 96 and 120 hours, at 42°C and 100% of relative air humidity. Physiological determinations were also effectuated and the cytogenetic analyses were realized through conventional techniques, as chromosome observation and mitotic index. To determine the sample size, an interactive process of resampling was conducted with 1000 resamplings, with restitution, using different sample sizes, starting with one seed and adding a seed to each interaction until the maximum size of 400 seeds. The obtained results reveal that the individual electric conductivity test was effective for the separation of the groups of wheat seeds and the best combination was the utilization of 25 ml of soaking solution and samples of 75 seeds, during the periods of 8 and 24 hours. The individual electric conductivity test was efficient for the vigor determination of the wheat seeds with the possibility of reading with reduced period of one hour of seed soaking. The seed deterioration caused by the accelerated aging has relation with the reduction of the germination potential and the vigor of the wheat seeds from the varieties *Campo Real* and *Ônix*; the stress caused by the accelerated aging on the seeds from both varieties leads to a drastic reduction on the mitotic index and the accelerated aging leads to an increase of anomalies frequency, possibly, related to a genotypic effect. The sampling, in number of wheat seeds, to evaluate the individual electric conductivity is of 44 seeds; for groups in which the accelerated aging was not applied, it is 27 seeds; for groups artificially aged, the amplitudes are from 3 to 5 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{seed}^{-1}$, for soaking time from one to 24 hours.

Key-words: *Triticum aestivum* L.. Vigor tests. Mass electric conductivity. Individual electric conductivity. Methodology standardization. Sample size. Cytogenetic analyses.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1** – Componentes de um condutivímetro individual: 1) bandeja de plástico compartimentada; 2) placa multisensora; 3) dosificador; 4) computador e monitor. UFSM 2013.46
- Figura 2** – Placa multisensora com eletrôdos. UFSM 2013.46

CAPÍTULO II

- Figura 1** – Células de *Triticum aestivum* L. em diferentes fases da divisão celular da cultivar Campo Real. Células em interfase (A1) e em divisão celular normal (prófase, metáfase, anáfase e telófase, correspondendo, respectivamente a: A2, A3, A4 e A5, do tratamento 1 (controle); **B**: célula com ponte anafásica do tratamento testemunha -T1; **C**: célula com prófase desorganizada do tratamento com 24 horas de envelhecimento acelerado – T2; **D**: célula com ponte telofásica do tratamento com 48 horas de envelhecimento celerado – T3; **E1 e E2**: célula com dois micronúcleos e célula em metáfase com cromossomo perdido do tratamento com 72 horas de envelhecimento- T4. Células em divisão, referentes aos tratamentos com, 96 e 120 horas de envelhecimento acelerado não estão apresentadas porque retratam prófase desorganizada e micronúcleo, as quais já, foram apresentadas (C e E1). 111
- Figura 2** – Células de *Triticum aestivum* L. em diferentes fases da divisão celular da cultivar Ônix. Células em interfase (A1) e em divisão celular normal (prófase, metáfase, anáfase e telófase, correspondendo, respectivamente a: A2, A3, A4 e A5, do tratamento 1 (controle); **B**: célula com micronúcleo do tratamento com 24 horas de envelhecimento- T2. **C**: célula com ponte anafásica do tratamento testemunha com 48 horas de envelhecimento acelerado – T3; **D**: célula binucleada em prófase do tratamento com 120 horas de envelhecimento acelerado – T6. Os tratamentos com 72 e 96 horas de envelhecimento acelerado (T4 e T5, respectivamente) apresentaram células em divisão, mas que não foram identificadas. 112

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1** – Determinação dos valores obtidos para as variáveis: teor de água (TA-%), germinação (G-%), primeira contagem de germinação (PC-%), teste de frio (TF-%), envelhecimento acelerado (EA-%), emergência a campo (EM-%) e índice de velocidade de emergência (IVE-%) para dez lotes de sementes de trigo de diferentes níveis de vigor. UFSM, Santa Maria, 2013..... 50
- Tabela 2** – Determinação dos valores obtidos para as variáveis: massa seca de parte aérea (MSPA-g), massa seca de raiz (MSR-g), massa seca total de plântulas (MST-g), comprimento de parte aérea (CPA-cm), comprimento de raiz (CPR-cm) e comprimento total de plântulas (CTO-cm) para dez lotes de sementes de trigo de diferentes níveis de vigor. UFSM, Santa Maria, 2013. 53
- Tabela 3** – Médias do teste de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas de embebição de dez lotes de 25 sementes de trigo em 25, 50 e 75mL de água. 57
- Tabela 4** – Médias do teste de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas de embebição de dez lotes de 50 sementes de trigo em 25, 50 e 75mL de água. 59
- Tabela 5** – Médias do teste de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) após 1,2,3,4,5,6,7,8 e 24 horas de embebição de dez lotes de 75 sementes de trigo em 25, 50 e 75mL de água. 61
- Tabela 6** – Coeficientes de correlação de Pearson entre condutividade elétrica massal e o teste de germinação, em diferentes combinações de volume de água, número de sementes e tempo de embebição. Santa Maria, RS. 2013. 64
- Tabela 7** – Coeficientes de correlação de Pearson entre a condutividade elétrica massal e a primeira contagem de germinação, em diferentes combinações de volume de água, número de sementes e tempo de embebição. Santa Maria, RS. 2013... 65
- Tabela 8** – Coeficientes de correlação de Pearson entre a condutividade elétrica massal e o teste de envelhecimento acelerado, em diferentes combinações de volume de água, número de sementes e tempo de embebição. Santa Maria, RS. 2013... 66
- Tabela 9** – Coeficientes de correlação de Pearson entre a condutividade elétrica massal e a emergência em campo, em diferentes combinações de volume de água, número de sementes e tempo de embebição. Santa Maria, RS. 2013. 67
- Tabela 10** – Coeficientes de correlação de Pearson entre a condutividade elétrica massal e o índice de velocidade de emergência, em diferentes combinações de volume de água, número de sementes. Santa Maria, RS. 2013..... 68
- Tabela 11** – Médias do teste de condutividade elétrica individual após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas de embebição para dez lotes de sementes de trigo. UFSM, Santa Maria, 2013. 69

- Tabela 12** – Coeficientes de correlação de Pearson entre as médias de condutividade elétrica individual e as médias de primeira contagem de germinação (PC), germinação (G), envelhecimento acelerado (EA) e emergência a campo (EM) e índice de velocidade de emergência de dez lotes de sementes de trigo em diferentes tempos de embebição. Santa Maria, RS. 2013..... 71
- Tabela 13** – Coeficientes de correlação de Pearson entre a condutividade elétrica massal e a condutividade elétrica individual em diferentes tempos de embebição de sementes de trigo, de diferentes combinações de volume de água e número de sementes. Santa Maria, RS. 2013..... 72

CAPÍTULO II

- Tabela 1** – Determinação dos valores obtidos para as variáveis: primeira contagem de germinação (PC-%), germinação (G-%), emergência a campo (EC-%), índice de velocidade de emergência (IVE-%) e condutividade elétrica massal (CEM- $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) para sementes de trigo das cultivares Ônix e Fundacep Campo Real submetidas a seis tratamentos. UFSM, Santa Maria, 2013..... 101
- Tabela 2** – Número de células meristemáticas de trigo, em diferentes fases do ciclo celular, submetidas a efeitos de tratamento por envelhecimento acelerado em 400 células avaliadas por tratamento. UFSM, Santa Maria, 2013. 104
- Tabela 3** – Número de células em interfase, células em divisão e índice mitótico para mesristemas radiculares de trigo submetidos a diferentes efeitos de tratamento com envelhecimento acelerado, em 400 células avaliadas por tratamento. UFSM, Santa Maria, 2013..... 106
- Tabela 4** – Número de células em divisão, número e tipos de aberrações celulares e número total de células irregulares. UFSM, Santa Maria, 2013. 108

CAPÍTULO III

- Tabela 1** – Estatísticas descritivas dos valores de condutividade elétrica individual (CEI) em $\text{uS}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$ de seis lotes de sementes de trigo em nove períodos de embebição. Santa Maria, RS. 2013. 128
- Tabela 2** – Tamanho de amostra, em número de sementes, para diferentes amplitudes entre os percentis 2,5% e 97,5% de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual de diferentes tempos de embebição de dez lotes de sementes de trigo. Santa Maria, RS. 2013. 130

LISTA DE APÊNDICES

CAPÍTULO I

- APÊNDICE A** – Quadrados médios da análise de variância dos testes de envelhecimento acelerado (EA) para dez lotes de sementes de trigo. UFSM, Santa Maria, 2013..... 85
- APÊNDICE B** – Estatística do teste de Kruskal-Wallis para os testes de primeira contagem de germinação (PC), germinação (G), frio (TF) e teor de água para dez lotes de sementes de trigo. UFSM, Santa Maria, 2013..... 85
- APÊNDICE C** – Estatística do teste de Friedman para os testes de emergência a campo (EM) e índice de velocidade de emergência (IVE) para dez lotes de sementes de trigo. UFSM, Santa Maria, 2013..... 85
- APÊNDICE D** – Quadrados médios da análise de variância dos testes de massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca total de plântulas (MST), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CPR) e comprimento total de plântulas (CTO) para dez lotes de sementes de trigo de diferentes níveis de vigor. UFSM, Santa Maria, 2013..... 86
- APÊNDICE E** – Quadrados médios da análise de variância do teste de condutividade elétrica massal após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas de embebição de 10 lotes de 25, 50 e 75 sementes de trigo em 25, 50 e 75 mL de volume de água..... 87
- APÊNDICE F** – Quadrados médios da análise de variância do teste de condutividade elétrica individual após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas de embebição para dez lotes de sementes de trigo. UFSM, Santa Maria, 2013..... 88

CAPÍTULO II

- APÊNDICE A** – Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância dos testes de primeira contagem de germinação (PG), germinação (G) e condutividade elétrica massal para sementes de trigo das cultivares Ônix e Fundacep Campo Real submetidas a seis tratamentos. UFSM, Santa Maria, 2013. 119
- APÊNDICE B** – Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância dos testes de emergência a campo (EC) e índice de velocidade de emergência (IVE) para sementes de trigo das cultivares Ônix e Fundacep Campo Real submetidas a seis tratamentos. UFSM, Santa Maria, 2013. 120

CAPÍTULO III

APÊNDICE A – Representação gráfica das estatísticas valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e máximo de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual de diferentes tamanhos de amostra em número de sementes (n) em 1 hora de embebição de dez lotes de sementes de trigo (1 - 10). Santa Maria, RS. 2013. 137

APÊNDICE B – Representação gráfica das estatísticas valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e máximo de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual de diferentes tamanhos de amostra em número de sementes (n) em 2 hora de embebição de dez lotes de sementes de trigo (1 - 10). Santa Maria, RS. 2013. 139

APÊNDICE C – Representação gráfica das estatísticas valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e máximo de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual de diferentes tamanhos de amostra em número de sementes (n) em 3 hora de embebição de dez lotes de sementes de trigo (1 - 10). Santa Maria, RS. 2013. 141

APÊNDICE D – Representação gráfica das estatísticas valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e máximo de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual de diferentes tamanhos de amostra em número de sementes (n) em 4 hora de embebição de dez lotes de sementes de trigo (1 - 10). Santa Maria, RS. 2013. 143

APÊNDICE E – Representação gráfica das estatísticas valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e máximo de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual de diferentes tamanhos de amostra em número de sementes (n) em 8 hora de embebição de dez lotes de sementes de trigo (1 - 10). Santa Maria, RS. 2013. 145

APÊNDICE F – Representação gráfica das estatísticas valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e máximo de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica **individual** de diferentes tamanhos de amostra em número de sementes (n) em 24 hora de embebição de dez lotes de sementes de trigo (1 - 10). Santa Maria, RS. 2013. 147

SUMÁRIO

| | |
|---|------------|
| INTRODUÇÃO GERAL | 27 |
| CAPÍTULO I | 31 |
| CONDUTIVIDADE ELÉTRICA MASSAL E INDIVIDUAL PARA DETERMINAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES DE TRIGO..... | 31 |
| Resumo | 31 |
| Abstract..... | 31 |
| 1.1 Introdução..... | 32 |
| 1.1.1 A cultura do trigo | 32 |
| 1.1.2 Qualidade das sementes | 34 |
| 1.1.3 Deterioração das sementes..... | 36 |
| 1.1.4 Teste de condutividade elétrica em sementes | 38 |
| 1.2 Material e métodos | 42 |
| 1.2.1 Estratificação dos lotes em diferentes níveis de vigor | 42 |
| 1.2.2 Caracterização inicial da qualidade dos lotes de sementes..... | 42 |
| 1.2.3 Padronização de metodologias para os testes de condutividade elétrica massal e condutividade elétrica individual..... | 44 |
| 1.2.3.1 Condutividade elétrica massal..... | 45 |
| 1.2.3.2 Condutividade elétrica individual | 45 |
| 1.3 Análise estatística | 47 |
| 1.4 Resultados e discussão | 48 |
| 1.4.1 Caracterização inicial..... | 48 |
| 1.4.2 Condutividade elétrica massal | 53 |
| 1.4.3 Condutividade elétrica individual..... | 68 |
| 1.5 Conclusões..... | 74 |
| 1.6 Referências..... | 74 |
| CAPÍTULO II..... | 89 |
| FISIOLOGIA E CITOGENÉTICA DE SEMENTES DE TRIGO SUBMETIDAS AO ENVELHECIMENTO ACELERADO | 89 |
| Resumo | 89 |
| Abstract..... | 90 |
| 2.1 Introdução..... | 90 |
| 2.1.1 Genética do trigo..... | 90 |
| 2.1.2 Importância da qualidade fisiológica de sementes | 91 |
| 2.1.3 Deterioração das sementes..... | 93 |
| 2.1.4 Análises citogenéticas..... | 94 |
| 2.2 Material e métodos | 96 |
| 2.2.1 Envelhecimento acelerado | 96 |
| 2.2.2 Caracterização da qualidade fisiológica das sementes | 97 |
| 2.2.3 Análises citogenéticas..... | 99 |
| 2.2.4 Análise estatística | 99 |
| 2.3 Resultados e discussão | 100 |
| 2.3.1 Caracterização fisiológica das sementes..... | 100 |
| 2.3.2 Análises citogenéticas..... | 104 |

| | |
|---|------------|
| 2.4 Conclusões | 113 |
| 2.5 Referências | 113 |
| 2.6 Apêndices..... | 119 |
| CAPÍTULO III..... | 121 |
| TAMANHO DE AMOSTRA PARA DETERMINAÇÃO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA INDIVIDUAL DE SEMENTES DE TRIGO | 121 |
| Resumo..... | 121 |
| Abstract | 121 |
| 3.1 Introdução | 122 |
| 3.1.1 Qualidade das sementes e teste e condutividade elétrica individual | 122 |
| 3.1.2 Tamanho de amostra | 124 |
| 3.1.2.1 O método bootstrap..... | 125 |
| 3.2 Material e métodos | 126 |
| 3.3 Análise estatística..... | 127 |
| 3.4 Resultados e discussão..... | 127 |
| 3.5 Conclusões | 132 |
| 3.6 Referências | 132 |
| 3.7 Apêndices..... | 136 |

INTRODUÇÃO GERAL

O trigo é uma cultura de extrema importância, ocupando, aproximadamente, 20% das áreas cultivadas no mundo e, detendo 30% da produção de grãos. Em regiões de clima temperado, a triticultura tem relevância econômica, no Brasil, principalmente na região Sul, o cultivo desse cereal contribui de maneira significativa para a sustentabilidade do agronegócio (GULLO, 2005).

Dentre os aspectos de cultivo que demandam atenção por parte dos produtores, está a qualidade das sementes utilizadas. A utilização de sementes com alto potencial fisiológico, capazes de germinar uniforme e rapidamente mesmo sob ampla variação ambiental, é imprescindível para o sucesso do estabelecimento do estande desejado e, fornece a base para a obtenção de elevadas produtividades (MARCOS FILHO, 2005).

Assim, a avaliação do potencial fisiológico das sementes é um componente essencial dos programas de controle de qualidade empregados por empresas produtoras de sementes, permitindo a adoção de práticas destinadas a garantir nível satisfatório de qualidade fisiológica das sementes, tanto durante o armazenamento quanto, posteriormente, na semeadura no campo. Isso leva a necessidade de aperfeiçoamento dos testes que determinam o potencial fisiológico das sementes, a fim de que esses forneçam informações seguras, devendo separar lotes de sementes com germinação semelhante.

A avaliação da qualidade das sementes é realizada, rotineiramente, através do teste de germinação, o qual possui metodologia padronizada para inúmeras espécies (BRASIL, 2009), permitindo dessa forma, a comparação de resultados entre os diferentes laboratórios de análise de sementes. Entretanto, pelo fato desse teste ser conduzido em condições ideais, diferente das que normalmente ocorrem no campo, possui algumas limitações, tais como, superestimar o potencial fisiológico das sementes, além de, não permitir a estratificação de lotes com percentual de germinação semelhante.

Essas limitações do teste de germinação levaram a necessidade de desenvolvimento de metodologias complementares, denominados testes de vigor. O vigor da semente pode ser definido como um índice do grau de deterioração fisiológica e/ou integridade mecânica de um lote de alto poder germinativo, representando sua extensa habilidade de estabelecimento no ambiente (ISTA, 1995); ou ainda, o vigor é uma propriedade das sementes, o qual determina o potencial para uma rápida e uniforme emergência e para o desenvolvimento de plântulas

normais sob uma ampla faixa de condições ambiente (AOSA, 1983). Entretanto, diferente do teste de germinação, não existem testes de vigor padronizados para a cultura do trigo.

O processo de deterioração das sementes e o vigor estão fisiologicamente interligados, ou seja, são aspectos recíprocos da qualidade das mesmas, assim, à medida que a deterioração avança, o vigor, conseqüentemente, decresce (MARCOS FILHO, 2005). No momento da maturidade fisiológica da semente, a sua qualidade é máxima, portanto, seu vigor também e, a partir desse estado a qualidade e o vigor decrescem progressivamente devido ao processo natural de deterioração. A deterioração é definida como qualquer modificação degenerativa, seja de origem física, bioquímica, fisiológica ou citogenética, culminando na perda do poder germinativo da semente (POPINIGIS, 1985).

Os testes de vigor complementam as respostas obtidas pelo teste de germinação, e possibilitam a obtenção de informações consistentes sobre a qualidade fisiológica das sementes. Além disso, muitos testes de vigor possuem metodologias simples e rápidas, que permitem obter informação da qualidade fisiológica das sementes de forma antecipada em relação ao teste de germinação, dentre esses, se destaca o teste de condutividade elétrica (FICK; HIBBARD, 1925).

A mensuração da qualidade das sementes de forma rápida e eficiente consiste em exigência das empresas sementeiras, de modo a permitir e agilizar tomadas de decisões, em especial, relativas às operações de colheita, processamento e comercialização (LOPES; FRANKE, 2010). Em função do teste de germinação demandar um tempo considerável, tem sido crescente o interesse pelo potencial das propriedades fisiológicas e bioquímicas das sementes como índices de vigor e, testes rápidos de vigor estão diretamente interligados com os acontecimentos iniciais do processo de deterioração das sementes, como a degradação das membranas celulares.

A determinação da condutividade elétrica da solução de embebição da semente, como teste de vigor, já está recomendada para sementes de ervilha e sugerida para as de soja (AOSA, 2002) e, atualmente, já se destaca como um dos principais testes, pois, mesmo que a perda da capacidade germinativa seja um indicativo relevante da perda de qualidade, esta é a última consequência, ou seja, a etapa final do processo de deterioração das sementes. O teste de condutividade elétrica baseia-se na integridade do sistema de membranas celulares, ou seja, na sua estruturação ou desestruturação. O teste é fundamentado na menor velocidade de estruturação das membranas por sementes menos vigorosas ou mais deterioradas, quando embebidas em água, tendo como consequência maior liberação de exsudatos para o exterior da célula e, portanto, maior condutividade elétrica que aquelas mais vigorosas e com menor

nível de deterioração (MARCOS FILHO, 2005). Dessa forma, o vigor das sementes é inversamente proporcional à leitura da condutividade elétrica (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

O teste de condutividade elétrica pode ser conduzido de forma massal (FICK; HIBBARD, 1925) ou individual (STEERE et al., 1981). Através do método massal, é determinada a média de condutividade elétrica de uma amostra de sementes, assim, esse método tem como restrição uma possível alteração dos resultados se uma semente da amostra estiver com algum tipo de dano. O método individual seria alternativo ao massal e, a determinação ocorre por sementes individuais, em que se tem um valor médio para o lote de sementes.

Além da avaliação da integridade das membranas celulares, alterações citogenéticas também são indicativas do avanço no processo de deterioração das sementes. O estudo do ciclo celular é uma ferramenta ímpar na citogenética, a qual permite o acesso a informações extremamente relevantes relativas à estrutura organizacional dos cromossomos, assim como, a maneira como eles se comportam nas diferentes fases da divisão celular (MORAES-FERNANDES, 1985; GRANT, 1994).

Dessa forma, utilizando-se de técnicas convencionais de citogenética, podem-se identificar anomalias que possam promover uma baixa qualidade das sementes e um vigor comprometido. O número básico de cromossomos do trigo, o qual é, razoavelmente, baixo ($x=7$) e seu tamanho grande, promove a facilidade de desenvolvimento de boas preparações meióticas ou mitóticas, o que tornam as análises citogenéticas amplamente importantes e informativas.

Metodologias que simulam a deterioração natural das sementes em laboratório, como o teste de envelhecimento acelerado, o qual tem como base o aumento da taxa de deterioração das mesmas à medida que a sua exposição a condições adversas de temperatura e umidade relativa também aumentam, têm sido empregadas como ferramenta de diferenciação de vigor entre lotes de sementes e, conseqüentemente, viabiliza o estudo citogenético das sementes submetidas a esse fator de estresse.

Sementes envelhecidas artificialmente podem apresentar diminuição do índice mitótico e diferenciação na frequência e na natureza das mutações cromossômicas das células de ponta de raiz (AKHTER et al., 1992). Segundo Natarajan (2002), alterações cromossômicas são conhecidas como importantes conseqüências de ações genotóxicas de agentes químicos, no entanto, através da técnica de envelhecimento acelerado pode-se verificar o mesmo efeito causado, porém, por um mecanismo fisiológico.

Tendo em vista a importância que a cultura do trigo representa e a demanda pela produção de sementes de elevada qualidade, é necessário o desenvolvimento e a padronização de testes eficientes na avaliação da qualidade fisiológica das sementes de trigo. Da mesma forma, as análises citogenéticas fornecem respostas a nível celular, que podem ser empregadas de maneira substancial na diferenciação de lotes de sementes quanto a sua qualidade.

Ainda, Pouco se conhece sobre tamanho amostral para pesquisas na área de sementes e, principalmente com relação ao teste de condutividade elétrica individual. Quando o teste de condutividade elétrica é conduzido de forma massal já existem diversos tamanhos de amostras testados e recomendados, no entanto, quando o teste de condutividade elétrica é realizado através da metodologia individual, como a leitura dos dados é feita com o auxílio de um analisador automático de sementes e, este aparelho dispõe de um tamanho de amostra padrão por repetição, o número de sementes utilizadas torna-se um fator relevante a ser analisado.

Assim, os objetivos desse trabalho foram padronizar a metodologia dos testes de condutividade elétrica massal e individual para a determinação da qualidade fisiológica de sementes de trigo, detectar alterações citogenéticas e estimar o índice mitótico no ciclo celular que ocorrem durante o processo de deterioração das sementes de trigo e estimar o tamanho de amostra, em número de sementes, necessário para a estimação da média de condutividade elétrica individual de sementes de trigo em diferentes tempos de embebição.

CAPÍTULO I

CONDUTIVIDADE ELÉTRICA MASSAL E INDIVIDUAL PARA AVALIAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES DE TRIGO

Resumo

O trigo é uma gramínea de grande importância econômica, cultivado, preferencialmente, em regiões de clima temperado. Dentre os fatores que interferem na produtividade da cultura está a qualidade das sementes utilizadas na implementação da lavoura, assim, torna-se importante a avaliação do potencial fisiológico das sementes, por meio de metodologias rápidas e eficientes. Os objetivos desse trabalho foram determinar e padronizar as metodologias dos testes de condutividade elétrica massal e individual para a determinação da qualidade fisiológica de sementes de trigo. Foram utilizadas cinco cultivares Fundacep Horizonte, Fundacep Campo Real, Quartzo, Mirante e Ônix, as quais foram subdivididas em dois sublotes de sementes para cada cultivar (alto e baixo vigor). Inicialmente os lotes foram caracterizados pelos seguintes testes e determinações teor de água, teste de germinação, primeira contagem de germinação, teste de frio, envelhecimento acelerado, emergência a campo, índice de velocidade de emergência, massa de mil sementes, comprimento e fitomassa seca de plântulas. Posteriormente, procedeu-se a padronização da condutividade elétrica massal (CEM) e condutividade elétrica individual (CEI). Na CEM foram testadas as variações de número de sementes (25, 50 e 75), volume de água (25, 50 e 75mL) e período de imersão (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas), com auxílio do condutivímetro marca Bel, modelo W12D. O teste de CEI foi realizado com auxílio de analisador automático de sementes SAD 9000-S, utilizando-se cinco mL de água e diferentes períodos de imersão (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas). Os testes de CEM e CEI foram eficientes para a determinação do vigor de sementes de trigo. Para a CEM a melhor combinação foi 25 mL de solução de embebição, 75 sementes, nos períodos de 8 e 24 horas. O teste de CEI indica a possibilidade de leitura com período reduzido até com 1 hora de embebição das sementes.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L.. Testes de vigor. Qualidade fisiológica.

Abstract

Wheat is a grass of huge economic importance, cultivated, preferentially, in temperate climate regions. Among the factors which interfere on the productivity of the cultivation is the quality of the used seeds on the implementation of the tith, therefore, it is important to evaluate the physical potential of the seeds, through fast and efficient methodologies. The objectives of this work were to determinate and standardize the methodologies of the mass and individual electric conductivity tests for the determination of the physiological quality of the wheat seeds. Five varieties were used: *Fundacep Horizonte*, *Fundacep Campo Real*, *Quartzo*, *Mirante* and *Ônix*, which were subdivided into two groups of seeds for each variety (high and low vigor). The groups were first characterized by the following tests and determinations: water content, germination test, first counting of germination, cold test, accelerated aging,

field emergency, field emergency index, mass of one thousand seeds, length and dry biomass of seedlings. Afterwards, a mass electric conductivity (MEC) and individual electric conductivity (IEC) standardizations have been proceeded. In the MEC, the variations of the seeds number were tested (25, 50 and 75), water volume (25, 50 and 75mL) and immersion period (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 and 24 hours), with the aid of the conductor Bel, model W12D. The IEC test was performed with the help of the automatic seed analyzer SAD 9000-S. being used five mL of water and different periods of immersion (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 and 24 hours). The MEC and IEC tests were efficient for the vigor determination of the wheat seeds. For the CEM, the best combination was 25 mL of soaking solution, 75 seeds, during the periods of 8 and 24 hours. The IEC test indicates the possibility of reading with reduced period even with 1 hour of seeds soaking.

Key-words: *Triticum aestivum* L.. Vigor tests. Physiological quality.

1.1 Introdução

1.1.1 A cultura do trigo

O trigo (*Triticum aestivum* L.) pertence à família *Poaceae*, tribo *Triticeae* (*Hordeae*), sub-tribo *Triticinae* e ao gênero *Triticum*, que engloba, aproximadamente, 24 espécies selvagens ou cultivadas, classificadas em três grupos, conforme o seu número cromossômico, em que $n=7$, portanto, as espécies diplóides são constituídas por 14 cromossomos, as tetraplóides por 28 e as hexaplóides, por 42 cromossomos, sendo *T. aestivum* e *T. durum*, as espécies mais cultivadas (SLEPER; POEHLMAN, 2006).

É um dos mais importantes cereais produzidos no mundo, procedente de climas frios, tem como centro de origem o sudoeste asiático e foi introduzido no Brasil por colonizadores europeus, sendo encontrada desde a região equatorial até a região polar, devido a obtenção de variedades de trigo derivadas de intensas pesquisas e melhoramento genético (GARCIA JUNIOR, 2006; SLEPER; POEHLMAN, 2006). Contribui com, aproximadamente, 30% da produção mundial de grãos, tendo como maior produtor a China (HUBNER, 2008; ABITRIGO, 2005), sendo considerado como uma *comodity* agrícola, devido a sua importância econômica, pois muitos alimentos são produzidos de forma direta ou indireta a partir desse cereal.

A produção mundial de trigo aumentou, substancialmente, a partir da década de 50 e, atualmente, propriedades de pequeno e médio porte do Sul do Brasil têm o cultivo do trigo

vinculado a sua sustentabilidade, onde este está amplamente introduzido no esquema de rotação de culturas de milho e soja, no sistema de semeadura direta (FRANCESCHI, 2009; CARDOSO, 2007). O estado do Paraná é o principal produtor brasileiro, devido, principalmente, as condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da cultura; e, os estados do Rio Grande do Sul e São Paulo também são contribuintes substanciais ao cultivo do trigo nacional. A produção paranaense está estimada em 2,62 milhões de toneladas, sendo, 24,2% maior do que o volume de produção de 2012/13, em função, basicamente, do aumento de 15,9% da área a ser cultivada (CONAB, 2013).

O Brasil vem ganhando espaço diante daqueles países produtores e exportadores, porém a taxa de importação de trigo ainda é alta, principalmente da Argentina, sendo a produção bastante inferior à demanda interna, porque a produção é decorrente de altos custos e de dificuldades de comercialização frente à facilidade de importação desse cereal (CUNHA, 2009). Assim, o Brasil não figura entre os principais países produtores de trigo, com a participação brasileira, do total da produção mundial, variando entre 0,5 a 1%, apesar de sua área.

Segundo dados da CONAB (2012), o Brasil apresentou área cultivada de 2,17 milhões de hectares na safra 20011/12, portanto, 0,8% maior do que na safra 2010/11. Os Estados de Minas Gerais, Distrito Federal, São Paulo e Rio Grande do Sul apresentaram crescimento de 2,2; 11,6; 6,1 e 17,6%, respectivamente. A produtividade do trigo, safra 2011/12, foi de 2,67 kg.ha⁻¹, representando um decréscimo de 2,3% em relação à safra passada e, a produção nacional do trigo, na safra 2011/12, foi de 5,79 milhões de t, ou seja, 1,6% menor do que foi colhido na safra anterior. A queda maior ocorreu no Paraná que colheu 814 milhões de t à menos do que na safra anterior (CONAB, 2012).

Entre os fatores que afetam o rendimento da cultura no país, está a qualidade das sementes utilizadas. A demanda brasileira potencial e efetiva pelas sementes de trigo na safra de 2010/2011 foi contabilizada em 293 mil t e 203 mil t, respectivamente, e a do estado do Rio Grande do Sul foi de 119 mil t e 80 mil t (potencial e efetiva, respectivamente) para o mesmo ano agrícola (ABRASEN, 2011). Há interesses sócio-econômicos no aumento da produção de trigo, pois, além do atendimento ao consumo nacional, o cultivo de trigo também traz melhorias ao solo com a incorporação dos restos culturais e fornece palhada para as culturas de clima quente, como a soja e o milho, assim, auxiliando na viabilização econômica da propriedade (ABITRIGO, 2005). No entanto, qualquer prática cultural ou de melhoramento genético pode esbarrar na qualidade das sementes que, se não for adequada, configura um fator limitante à produção, pois a semente contribui de maneira decisiva para o

sucesso do estabelecimento do estande desejado, fornecendo, assim, a base para a produção agrícola.

Dessa forma, a demanda por sementes com alta qualidade é imprescindível e exige das empresas produtoras padrões de qualidade rígidos, congregados a sistemas produtivos especializados e lucrativos. Para isso, tais corporações têm investido em programas de controle de qualidade interno, monitorando cada etapa do sistema de produção de sementes, uma vez que essa atividade necessita cuidados em todas as etapas do processo produtivo (PINHO; SALGADO, 2006).

1.1.2 Qualidade das sementes

De modo a garantir uma população de plantas uniformes e vigorosas, em amplas condições ambientais e o aproveitamento do potencial produtivo de uma cultura, é imprescindível o uso de sementes de alta qualidade, pois, o bom desempenho das culturas está relacionado à qualidade das sementes utilizadas, considerando-se que esta transporta todo o potencial genético de uma espécie, cultivar ou de um lote (GUIMARÃES et al., 2006).

Sementes de alta qualidade são aquelas que resultam do somatório de quatro atributos: genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, que afetam a capacidade de originar plantas de alta produtividade. A qualidade fisiológica das sementes significa a capacidade para desenvolver funções vitais, abrangendo germinação, vigor e longevidade (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; POPINIGIS, 1985).

A avaliação do potencial fisiológico das sementes é fundamental como base para os processos de produção, distribuição e comercialização dos lotes de sementes. Assim, as empresas produtoras sementeiras e os laboratórios de análise de sementes, devem fazer uso de testes que ofereçam resultados reproduzíveis, seguros e que indiquem, com confiabilidade, a qualidade de um lote de sementes, principalmente, quando se refere ao vigor das mesmas, (FRIGERI, 2007).

O potencial fisiológico dos lotes de sementes é, rotineiramente, avaliado pelo teste de germinação, no entanto, como esse teste é feito em condições ideais de laboratório, com luminosidade, temperatura e substrato adequados, tais fatores podem superestimar ou favorecer os resultados, os quais, conseqüentemente, podem não se correlacionar com os resultados obtidos através do teste de emergência das plântulas em campo e/ou no

armazenamento, ou seja, em condições de ambiente, geralmente, adversas (LIMA, 2005). Essas diferenças podem ser explicadas pelo fato de que as primeiras alterações nos processos bioquímicos associados à deterioração das sementes, normalmente, ocorrem antes do declínio na capacidade germinativa. Assim, os testes de vigor são importantes, pois, permitem uma avaliação mais criteriosa, levando a identificação de diferenças entre lotes de sementes com germinação semelhante (DELOUCHE; BASKIN, 1973; MATTHEWS; POWELL, 1981; TOLEDO; MARCOS FILHO, 1977; MEDINA; MARCOS FILHO, 1990).

Diante dessa constatação, originou-se a necessidade do desenvolvimento de testes de vigor de sementes, visando complementar e aumentar a eficiência da avaliação da qualidade fisiológica de sementes. Porém, a maioria dos testes de vigor existentes não são ainda selecionados e padronizados para culturas em específico, o que dificulta sua utilização no momento da avaliação das sementes.

O vigor das sementes não é uma simples propriedade mensurável como a germinação e, sim um conceito, que descreve várias características, as quais estão associadas com vários aspectos do comportamento da semente durante a germinação e desenvolvimento das plântulas (MARCOS FILHO, 2001; TEKRONY, 2003). O conceito de vigor ainda é bastante discutido no meio científico, porém abrange características tanto da semente, quanto do ambiente. Segundo Marcos Filho (2005) e Höfs et al. (2004), o vigor compreende uma soma de características da semente que determina o potencial para a emergência e o rápido desenvolvimento de plântulas normais sob ampla diversidade de condições ambientais. Segundo Franco; Petrini (2002), a expressão “vigor de sementes” foi utilizada durante anos, porém, apenas a partir das últimas décadas foi definido como um fator de qualidade e se compreendeu os seus efeitos sobre o comportamento e emergência de sementes em campo.

Sabe-se que para os testes de vigor serem considerados adequados e promissores para culturas específicas, os mesmos devem apresentar determinadas características, tais como: a reprodução da germinação em campo, ou seja, a sua influência sobre o desempenho das plantas e plântulas em campo, a detecção de diferenças entre lotes com germinações semelhantes, porém com vigor distinto, além de aferir um potencial de armazenamento. Assim, os testes de vigor se destacam por possibilitarem identificar diferenças de qualidade entre lotes de sementes e, assim, complementando o teste de germinação, o qual fornece informações sobre a viabilidade das sementes.

Exemplos de métodos de estimativa de vigor de sementes e complementares ao teste de germinação são: o teste de primeira contagem, o envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em campo, o índice de velocidade de emergência, o crescimento de plântulas, teste

de frio, entre outros. Além desses, existem também os testes de condutividade elétrica massal e individual (ANDRADE et al., 1995; PIÑA-RODRIGUES et al 2004), os quais se destacam não somente pela eficiência, mas também pela rapidez de execução e obtenção de resultados.

Em estudo, realizado pelo Comitê de Vigor da ABRATES (IRIGON; ROSSINI, 1992), foram amostradas sementes de trigo referentes a doze lotes, objetivando aferir resultados, em laboratórios diferentes, dos testes de: envelhecimento acelerado, massa seca, velocidade de germinação e crescimento de plântulas. Devido a obtenção de variações significativas de resultados, as quais foram observadas entre os laboratórios onde os testes foram realizados, concluiu-se pela necessidade de ratificação dos procedimentos adotados para esses testes, considerando importante a uniformidade da temperatura do ar e das sementes no interior do equipamento utilizado para a condução do teste de envelhecimento acelerado e o controle da umidade do substrato, luminosidade e temperatura, que requerem os testes de crescimento de plântulas e de velocidade de germinação.

A avaliação do potencial fisiológico das sementes é fundamental como base para os processos de produção, distribuição e comercialização dos lotes de sementes. Assim, as empresas produtoras de sementes e laboratórios de análise de sementes, devem utilizar testes que ofereçam resultados reproduzíveis, confiáveis e que indiquem, com segurança, a qualidade de um lote de sementes, principalmente no que se refere ao vigor (FRIGERI, 2007).

Diante do exposto, fica claro, que o vigor de sementes, até mesmo pela sua complexibilidade, não pode ser determinado apenas por um teste, mas pela combinação de resultados de diversos testes de vigor para obtenção de um diagnóstico preciso, que garanta um bom desempenho das sementes em campo e em condições de armazenamento.

1.1.3 Deterioração das sementes

A deterioração das sementes é um processo determinado por uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, que tem início a partir do momento da maturidade fisiológica, ou seja, quando a semente atinge a sua máxima qualidade, o qual ocorre de maneira progressiva, determinando a queda da qualidade e culminando na perda total do poder germinativo da semente.

Entre as principais alterações envolvidas no processo de deterioração das sementes, destacam-se efeitos que podem ser classificados em fisiológicos ou em

metabólicos/bioquímicos (BRACCINI et al., 2001; MARCOS FILHO, 2005). Os classificados como fisiológicos são mais evidentes e dentre eles estão: a redução na velocidade de emergência de plântulas, a redução no crescimento, a menor resistência as condições ambientais adversas, a maior suscetibilidade ao ataque de patógenos, a diminuição no potencial de armazenamento, o aumento do número de plântulas com anomalias, a desuniformidade e a perda do poder germinativo (CORTE, 2008).

Os efeitos metabólicos ou bioquímicos podem ser exemplificados pela redução da taxa de respiração e na produção de ATP, alterações em sistemas enzimáticos e do metabolismo de reservas, alterações nos sistemas de membranas e produção de espécies reativas oxigênio pelas células (CARVALHO, 1994; MARCOS FILHO, 2005).

As perdas de vigor e da viabilidade das sementes, devido ao processo de deterioração, também estão associadas as alterações citogenéticas, resultando no comprometimento da integridade do material genético das sementes. Entre os eventos que compõem o processo de deterioração e que envolvem o material genético, estão: a degradação no DNA, levando a redução na capacidade de síntese de proteínas (BANERJEE et al., 1981), os danos no metabolismo de DNA e RNA (VÁZQUEZ-RAMOS, 1991), além de danos cromossômicos durante o envelhecimento das sementes (FONTES et al., 2001).

O processo de deterioração é inevitável, porém seus efeitos podem ser amenizados durante o período de armazenamento das sementes, como, por exemplo, diminuindo-se a temperatura do ar e o teor de água, para, dessa maneira, reduzir as atividades metabólicas, com reflexos sobre os níveis respiratórios do embrião (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). O grau de hidratação das sementes, associado com a temperatura mais elevada, acarretam em mudanças no estado energético da água, que culminam em mudanças no metabolismo respiratório da semente (BRADFORD, 1995).

O envelhecimento das sementes, causado pela deterioração, inicia com a desestruturação das membranas, ou seja, leva a peroxidação lipídica das membranas celulares e, conseqüentemente, a uma desorganização e extravasamento de eletrólitos, devido ao descontrole do metabolismo celular e das trocas de água e soluto entre os meios intra e extracelulares, refletido de maneira prejudicial sobre a qualidade fisiológica das sementes (ALVES et al., 2004). A causa da desestruturação das membranas seria a reação dos lipídios estruturais com o oxigênio molecular, levando a formação de estruturas nocivas celulares, tais como, radicais livres e peróxidos de ácidos graxos (CARVALHO, 1994). Dentre os eletrólitos lixiviados e liberados, encontram-se: açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, enzimas e íons orgânicos, como Na^+ , K^+ , Ca^{++} , e Mg^{++} . Uma elevada taxa de lixiviação desses eletrólitos das

sementes caracteriza a primeira consequência da redução de vigor das sementes. Danos na embebição também são consequentes da deterioração das sementes, assim, dessa forma, a concentração de lixiviados na água de imersão aumenta gradativamente com o grau de deterioração (MATTHEWS; POWELL, 2006).

Ao colocar a semente seca em contato com a água, durante a imersão, ocorre uma rápida e intensa lixiviação de solutos de forma proporcional ao estado de desorganização das membranas e inversamente proporcional à velocidade de reorganização das membranas, que voltam a adquirir permeabilidade e a quantidade de eletrólitos lixiviados do conteúdo celular para o meio externo, decresce (VIEIRA, 1994).

Dessa forma, a integridade das membranas celulares, detectada através do grau de deterioração das sementes, por intermédio de testes de vigor compreende uma ferramenta importante e indispensável na avaliação da qualidade fisiológica, possibilitando a avaliação rápida do vigor e auxiliando na tomada de decisões quanto ao destino de um lote de sementes, ou seja, quanto ao seu uso ou seu descarte.

Testes que avaliam o vigor das sementes através da degradação das membranas celulares e da quantidade de lixiviados liberados pela semente em solução aquosa, baseiam-se na mensuração da condutividade elétrica desses eletrólitos e, são, atualmente, bastante promissores, pela sua eficácia, precisão, rapidez e baixo custo. Entre eles, estão os testes de condutividade elétrica massal e o individual, em que este último ainda é bastante incipiente e necessita de maiores estudos com a cultura do trigo.

1.1.4 Teste de condutividade elétrica em sementes

O teste de condutividade elétrica foi proposto por Fick; Hibbard (1925) visando estimar o vigor de sementes de ervilha, através da mensuração da corrente elétrica liberada pelos eletrólitos lixiviados pelas sementes colocadas em solução, durante o processo de embebição. O condutímetro é um aparelho que, através das suas propriedades eletrolíticas, mensura essa quantidade de solutos lixiviados (VIEIRA et al., 2002).

Esse teste está, diretamente, relacionado à integridade das membranas celulares. Membranas mal estruturadas e células danificadas estão, geralmente, associadas com o processo de deterioração da semente e, portanto, com sementes de menor vigor. Sementes com maior grau de deterioração têm menor velocidade de reestabelecimento da integridade

das suas membranas durante a imersão, desse modo, liberam uma maior quantidade de solutos citoplasmáticos para a solução (MARCOS FILHO, 2005), resultando em alto valor de condutividade elétrica (WOODSTOCK, 1973; BEDFORD, 1974) ou em elevadas concentrações de determinados íons, principalmente, K^+ (MARCOS FILHO et al., 1990; PRETE, 1992).

Além do nível de deterioração das sementes, outros fatores podem afetar os resultados do teste de condutividade elétrica, tais como: o volume de água utilizada para a imersão das sementes, a temperatura, a duração do período de hidratação, o tamanho da semente, o teor de água inicial e o número de sementes testadas (OLIVEIRA, NOVEMBRE, 2005), desse modo, a metodologia deve ser ajustada e testada para cada cultura em particular.

Dentre os fatores mencionados, o período de hidratação é o mais estudado. A maior parte dos trabalhos indica o período de 24 horas de imersão das sementes como o melhor para a estratificação de lotes em diferentes níveis de vigor, porém, já se encontra pesquisas que apontam para a redução desse período de tempo, tornando o teste ainda mais promissor. Como pode-se verificar em sementes de pimentão, em que o aumento da concentração de lixiviados ocorreu a partir de duas horas após o início da hidratação (OLIVEIRA; NOVEMBRE, 2005). Para sementes de maxixe (TORRES et al., 1998) e de couve flor (KIKUTI, 2007) o período de hidratação foi reduzido para quatro horas, e para amendoim o período de três horas já se mostrou eficiente (VANZOLINI; NAKAGAWA; 1999). Ainda, para sementes de tomate (SÁ, 1999) e de berinjela (NOVEMBRE et al., 2002) foi possível diminuir o tempo de imersão de 24 horas para apenas seis horas.

Outros dois fatores muito estudados e relevantes são a combinação do volume de água utilizado para embebição e o número de sementes. Para sementes de milho, a melhor combinação utilizada para estimar o vigor foi de 100 sementes em 100mL de água à 25°C (GASPAR; NAKAGAWA, 2002), para sementes de cornichão, 100 sementes em 250mL e água à 20°C (ARTOLA; CARRILLO-CASTAÑEDA, 2005) e para sementes de berinjela e pimentão, 25 sementes em 25mL de água, porém, a 25°C e a 30°C, respectivamente (NOVEMBRE et al., 2005).

Verifica-se que, para algumas espécies o resultado varia de acordo com a cultivar ou genótipo estudados. Fato constatado por Rodo et al. (1998) e SÁ (1999) para sementes de tomate de genótipos diferentes, através dos resultados oriundos da utilização de diferentes combinações de número de sementes e volume de hidratação. Em estudos realizados com sementes de trigo, foram testadas algumas combinações de temperatura e período de

embebição, verificando que cada genótipo gerava diferenças significativas nos valores da condutividade elétrica (LIMA, 2005).

Ainda, o teor de água inicial das sementes pode alterar o resultado do teste de condutividade, sendo que, teores muito altos de umidade nas sementes elevam os valores de condutividade elétrica e, valores muito baixos interferem na lixiviação dos eletrólitos para o meio extracelular, conseqüentemente, diminuindo os valores de condutividade elétrica (VASQUEZ, 1995). O ideal é um teor de água inicial das sementes situado entre 11 e 17% (AOSA, 1983).

O teste de condutividade elétrica já está estabelecido para avaliação do vigor de sementes de ervilha (ISTA, 2006) e, sugerido para sementes de soja (AOSA, 2002). No entanto, devido a importância desse teste, ele tem sido estudado para demais culturas, também, buscando a sua padronização.

Este teste foi eficaz ou promissor para discriminar lotes de sementes de trigo (MERTZ et al., 2012), soja (CARVALHO et al., 2009), aveia preta (MENEZES et al., 2007), mamona (SOUZA et al., 2009), feijão (ALBUQUERQUE, 2005), azevém (LOPES; FRANKE, 2010), arroz (BARBIERI, 2011), girassol (HAESBAERT, 2013), entre outras culturas.

Esse teste pode ser conduzido de duas formas, sendo a mais usual o teste de condutividade elétrica pelo método massal, em que é determinada a média de condutividade elétrica de uma amostra de sementes, assim, esse método tem como restrição uma possível alteração dos resultados se uma semente da amostra estiver com algum tipo de dano. O método individual (STEERE et al., 1981) seria uma alternativa ao massal, mas, de modo geral, segue o mesmo princípio do sistema massal, considerando, da mesma forma, os fatores que podem interferir nos resultados.

As principais diferenças entre os testes de condutividade elétrica massal e individual remetem a forma como é feita a hidratação das sementes e no tipo de aparelho utilizado para a leitura dos resultados obtidos. No individual, as sementes são distribuídas individualmente em bandejas com 100 células, nas quais é adicionada um determinado volume de água deionizada. Após cada período de imersão, é realizada a leitura com analisador automático, o qual quantifica a corrente elétrica na água de imersão de cada célula, apresentando resultados individuais para cada semente (COSTA; CARVALHO, 2006). O resultado é expresso em microsiemens (μS) por centímetro e por semente, dependendo da concentração de íons da solução de embebição. Existem vários modelos de analisadores automáticos, tais como, os

chamados: G-2000, ASA (ASA-220, ASA-610, ASA-610S) e SAD (SAD 900-S, SAD 900-D e SAD 9000-D).

O teste de condutividade elétrica individual mostrou eficiência na diferenciação de lotes de sementes de soja (HAMMAN, et al., 2001; SALINAS et al., 2001) e em sementes de trigo, a partir de três horas de embebição (MERTZ et al., 2012). Silva (2009), em estudos com feijão, demonstrou que é possível determinar o vigor pelo teste de condutividade elétrica individual no período de uma hora de hidratação das sementes, utilizando eixos embrionários. Ainda, para feijão, Albuquerque (2005) estratificou lotes em diferentes níveis de vigor, através da metodologia individual, após um período de 12 horas de imersão. Haesbaert (2013) concluiu que o teste de condutividade elétrica individual é promissor para a separação em categorias fisiológicas distintas para lotes de sementes de girassol e, que os períodos de 1 a 24 horas apresentam alta correlação entre emergência em campo e condutividade elétrica individual. Sementes de arroz também foram classificadas em diferentes lotes, conforme a sua qualidade, pelo teste de condutividade elétrica, conduzido de forma individual, porém, com influência dos genótipos estudados (BARBIERI, 2011). Vidal (2010), trabalhando com sementes de milho, conseguiu obter resultados significativos quanto a diferenciação dos lotes estudados, só a partir de 24 horas de embebição.

Apesar desses resultados promissores, o teste de condutividade elétrica individual não foi consistente para obtenção de resultados significativos quando sementes de mamona foram avaliadas por Souza et al. (2009).

Esse teste ainda necessita de estudos, de modo a ser padronizado, mesmo já sendo promissor para diversas culturas. A execução do teste de forma massal é bem mais difundida para inúmeras culturas, seguindo a metodologia utilizada para a soja, porém, de maneira individual, carece de mais pesquisas. Como o teste de condutividade elétrica individual é conduzido de forma rápida e eficiente, poderá beneficiar significativamente as empresas produtoras de sementes e, também, os laboratórios de rotina ou de pesquisa.

Assim, os objetivos desse trabalho foram determinar e padronizar as metodologias dos testes de condutividade elétrica massal e individual para a determinação da qualidade fisiológica de sementes de trigo.

1.2 Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Didático e de Pesquisa em Sementes (LDPS), do Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal de Santa Maria. Foram utilizadas sementes de trigo pertencentes às cultivares: Fundacep Horizonte, Fundacep Campo Real, Quartzo, Mirante e Ônix, adquiridas na empresa Imex Sul Insumos agrícolas – LTDA, produzidas no município de Santa Maria, RS, e armazenadas durante o decorrer do experimento, sem aditivo químico. Posteriormente, essas cinco cultivares foram subdivididas em dez lotes de vigor diferenciado.

1.2.1 Estratificação dos lotes em diferentes níveis de vigor

Cada uma das cultivares de trigo foi fracionada em dois sublotes e, em um deles foi aplicada a metodologia de envelhecimento acelerado, visando decréscimos no vigor das sementes. Para isso, os lotes de sementes foram acondicionados em câmara de envelhecimento acelerado, sobre telas de alumínio, fixadas em caixas. Esses lotes foram mantidos em condições adversas de temperatura e umidade (42°C e UR próxima a 100%) (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999). As sementes permaneceram incubadas por um período de 60 horas e, esse tempo foi determinado através de pré-testes de envelhecimento das sementes, de modo que se obtesse níveis diferenciados de vigor.

1.2.2 Caracterização inicial da qualidade dos lotes de sementes

Efetou-se a caracterização inicial dos lotes de sementes de trigo (cinco lotes sem, e cinco lotes com envelhecimento), através dos seguintes testes:

Teor de água: foi determinado pelo método de estufa, utilizando cinco gramas de sementes incubadas a temperatura de $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, por 24 horas em estufa com circulação forçada de ar, utilizando quatro repetições, conforme as Regras para Análise de Sementes, RAS (BRASIL, 2009).

Teste de germinação: foi realizado para cada lote utilizando quatro repetições de 100 sementes, semeadas em rolos de papel umedecidos com 2,5 vezes a massa do papel seco em água destilada, acondicionados em sacos plásticos para a manutenção da umidade e, mantidos em germinador regulado à 20°C. As avaliações foram realizadas aos quatro e aos sete dias para após início do teste, conforme as Regras para Análise de Sementes, RAS (BRASIL, 2009), sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Primeira contagem de germinação: foi realizada conjuntamente com o teste de germinação, computando-se as porcentagens médias de plântulas normais, após quatro dias da instalação do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Comprimento de plântulas: foi realizado no sétimo dia após a instalação do teste de germinação, sendo as plântulas escolhidas aleatoriamente, obtidas através da semeadura de quatro repetições de 20 sementes, no terço superior da folha do papel substrato (NAKAGAWA, 1999) umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa do substrato, e levadas ao germinador à temperatura de 20°C. Determinam-se os comprimentos de parte aérea e raiz de 15 plântulas normais, com auxílio de régua graduada em milímetros. Os comprimentos médios da parte aérea, raiz e total foram obtidos somando-se as medidas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plântulas avaliadas. Os resultados foram expressos em centímetros.

Fitomassa seca de plântulas: após a determinação do comprimento de plântulas, as mesmas foram seccionadas, separando-se a parte aérea do sistema radicular. Após, o material foi colocado em cápsulas de alumínio, mantido em estufa com convecção forçada, regulada a 80°C, por 24 horas. Em seguida, foi avaliada a fitomassa seca, através da mensuração em balança de precisão (0,0001g) e, os resultados foram expressos em gramas. plântula⁻¹, conforme recomendações de Nakagawa (1994).

Emergência das plântulas em campo: foi conduzido com quatro blocos de 100 sementes por lote, semeadas em linhas de 2,0m de comprimento com espaçamento de 0,20m e profundidade média de 0,03m. A avaliação da porcentagem de emergência das plântulas foi efetuada aos quatorze dias após a semeadura, quando não foi mais observada a emergência de novas plântulas, determinando-se a porcentagem de plântulas normais emergidas segundo os procedimentos descritos por Nakagawa (1999).

Índice de velocidade de emergência (IVE): foi conduzido conjuntamente com o teste de emergência de plântulas em campo, por meio da contagem diária do número de plântulas emergidas (comprimentos de plântula de 1cm acima do substrato) até a estabilização. Para cada repetição, foi calculado o IVE, somando-se o número de plântulas emergidas

diariamente, dividido pelo número de dias transcorridos, a partir da semeadura, empregando-se a fórmula proposta por Maguire (1962):

$IVE = E_1/N_1 + E_2/N_2 + \dots + E_n/N_n$, em que:

E_1, E_2, E_n é o número de plântulas emergidas computadas nas contagens;

N_1, N_2, N_n é o número de dias da semeadura da 1ª, 2ª até a última avaliação.

Teste de envelhecimento acelerado: foi conduzido pelo método do *gerbox*, ajustado para formar uma câmara úmida (100% de umidade), adaptando da metodologia proposta por Marcos Filho (1999). Foram utilizadas caixas plásticas tipo *gerbox* (11 x 11 x 3cm) como minicâmaras, onde foram adicionados ao seu interior 40mL de água destilada, além de telas de arame suspensas e ajustadas, onde foram colocadas, uniformemente, 5g de sementes de cada lote de cada cultivar. Posteriormente as caixas foram tampadas e mantidas em câmaras tipo BOD's reguladas nas temperaturas de 42°C por 60 horas (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999). Em seguida, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, com seus resultados expressos em porcentagem e analisados aos quatro dias após a semeadura.

Teste de frio: foi realizado com quatro repetições de 100 sementes para cada um dos lotes, semeadas em rolos de papel umedecidos com água destilada no volume equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. Em seguida, os rolos foram acondicionados em sacos plásticos e vedados, permanecendo por um período de sete dias em geladeira à temperatura constante de 10°C. Após esse período, os rolos foram transferidos para germinador regulado a 20°C, durante quatro dias, conforme as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009) e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Após a caracterização da qualidade inicial dos lotes de sementes, procedeu-se a aferição e a padronização da metodologia dos testes de condutividade elétrica massal e condutividade elétrica individual.

1.2.3 Padronização de metodologias para os testes de condutividade elétrica massal e condutividade elétrica individual

1.2.3.1 Condutividade elétrica massal

Para padronizar a metodologia do teste de condutividade elétrica massal em sementes de trigo foram testadas variações (tratamentos): no volume de água de imersão das sementes (25, 50 e 75mL); no período de imersão (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas); e, no número de sementes utilizadas (25, 50 e 75). Foram utilizadas quatro repetições dos tratamentos, com sementes fisicamente puras, cuja massa foi pré determinada com utilização de balança de precisão de três casas decimais (0,001g), imersas em água destilada e deionizada, em copos plásticos (200mL) e mantidas em câmara tipo BOD, sob temperatura constante de 20°C. Transcorridos os tempos de imersão, as amostras foram submetidas a agitação, com o auxílio de bastão de vidro e, a leitura da condutividade elétrica da solução foi realizada através da utilização de condutivímetro marca Bel, modelo W12D. Este equipamento foi ligado sempre 30 minutos antes das leituras e foi calibrado com solução padrão de KCl, na qual o aparelho deve marcar $1273 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, à 20°C. Como a água destilada e deionizada pode apresentar uma condutividade elétrica de $1-3 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, a leitura dos padrões pode ser levemente acima do valor mencionado (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999). Os dados foram expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de sementes, da seguinte maneira:

$$\text{CE} = \text{L}/\text{m}$$

Em que:

CE: condutividade elétrica massal, expressa em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$.

L: leitura da condutividade elétrica da solução de hidratação de sementes, em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

m: massa das sementes colocadas para embeber na solução de hidratação, expressa em gramas.

Após, cada leitura o eletrodo foi seco com papel toalha a fim de se evitar a condução de resíduos de uma amostra para a outra.

1.2.3.2 Condutividade elétrica individual

Para a realização do teste de condutividade elétrica da solução de forma individual, foi utilizado o Analisador Automático de Sementes (SAD 9000-S) (Figura 1). Este aparelho

dispõe de uma bandeja com 100 alvéolos, onde foram colocadas uma semente por célula em 5mL de água destilada e deionizada, configurando quatro repetições de 100 sementes para cada lote. A seguir, as bandejas foram colocadas em câmara tipo BOD, a temperatura constante de 20°C, e as leituras foram realizadas em nove períodos de imersão (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas), para cada lote de sementes. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1}$ de semente.



Figura 1 – Componentes de um condutivímetro individual: 1) bandeja de plástico compartimentada; 2) placa multisensora; 3) dosificador; 4) computador e monitor. UFSM 2013.

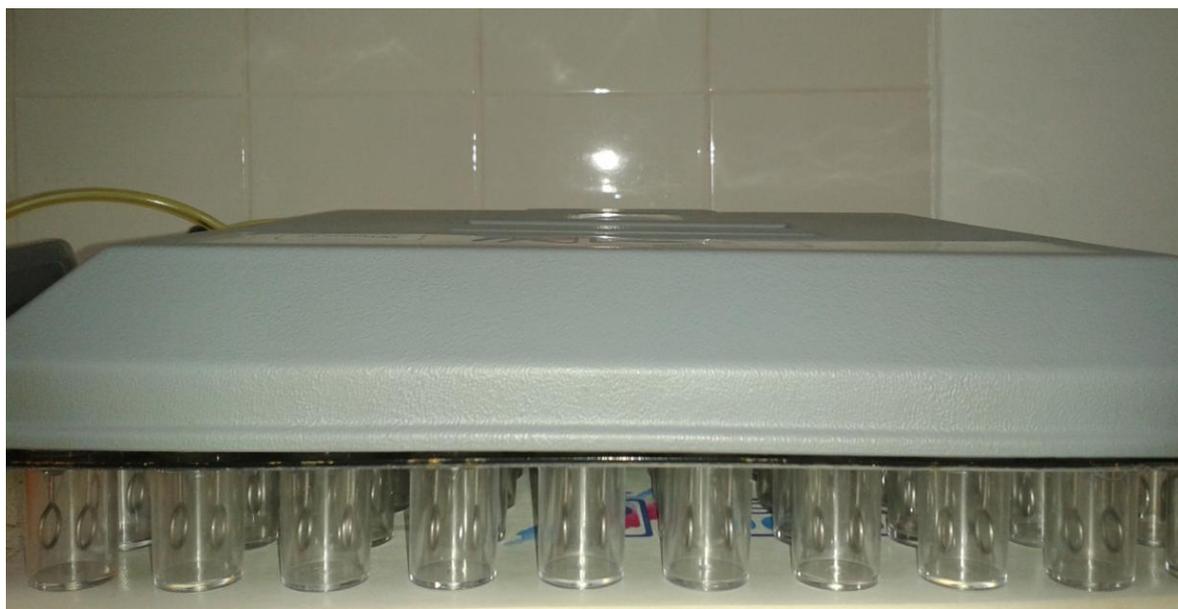


Figura 2 – Placa multisensora com eletródos. UFSM 2013.

1.3 Análise estatística

Foram testados os pressupostos de normalidade dos erros e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Anderson-Darling, em nível 5% de probabilidade de erro e, quando algum dos pressupostos não foi atendido, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, em 5 % de probabilidade de erro, quando o delineamento experimental foi inteiramente casualizado e, o teste de Friedman, em nível 5% de probabilidade de erro, quando o delineamento foi de blocos ao acaso.

No laboratório, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Para os testes de emergência em campo e índice de velocidade de emergência, foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições.

Pelo não atendimento aos pressupostos da análise de variância, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis para as variáveis: germinação, primeira contagem de germinação e teste de frio e teste de Friedman para as variáveis: emergência em campo e índice de velocidade de emergência. Para as variáveis que atenderam aos pressupostos, utilizou-se o teste de Scott-Knott: envelhecimento acelerado e massa de mil sementes.

De modo a atender as pressuposições da análise de variância, os resultados obtidos em porcentagem foram transformados através de arcsen raiz de $x/100$, em que x representa a porcentagem de plântulas normais obtidas pelos testes.

Os dados de condutividade elétrica massal foram analisados através de um esquema bifatorial 10×3 (lotes \times volume de água), para um mesmo número de sementes e mesmo tempo de embebição. Todas as análises foram realizadas com quatro repetições. As médias obtidas foram comparadas entre si pelo teste de médias de Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Foi utilizado o aplicativo estatístico Sisvar (FERREIRA, 2008). Calcularam-se, também, os coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as médias obtidas através do teste de condutividade elétrica massal e individual, e, as médias obtidas em cada teste de caracterização inicial. A significância dos valores de r obtidos foi determinada pelo teste t , em nível de 5% de probabilidade de erro e, utilizou-se o aplicativo Action para as análises de correlação.

1.4 Resultados e discussão

1.4.1 Caracterização inicial

Nas Tabelas 1 e 2, encontram-se os dados da caracterização inicial dos lotes de sementes de trigo. É possível observar variabilidade na qualidade fisiológica das sementes provenientes dos diferentes lotes, fator, esse, importante para obtenção de representatividade, quando se trata de uma padronização de metodologia de teste de vigor. Pela análise de variância ou pelos testes não paramétricos aplicados (Apêndices A, B, C e D), identificou-se efeito significativo para os lotes em todas as variáveis analisadas.

O teor de água das sementes dos dez lotes apresentou valores mínimos e máximos entre 11,11% e 12,68%. Dessa forma, a variação do grau de umidade entre os lotes foi de 1,57 pontos percentuais, a qual está de acordo com a amplitude máxima aceitável, entre lotes de sementes, que é de 1 a 2 pontos percentuais (MARCOS FILHO, 1999).

Constata-se relativa uniformidade do teor de umidade entre os lotes, o que é considerado uma premissa para se obter resultados confiáveis. Em geral, teores de água muito baixos, ou seja, menor ou igual a 10%, ou muito alto, ou seja, maior ou igual a 17%, têm influência direta e significativa nos resultados obtidos pelo teste de condutividade elétrica, sendo que o teor de água ideal deve estar na faixa entre 10% e 17%. Estudos demonstram que, quando o teor de água é muito alto, há um aumento bastante significativo nos valores da condutividade elétrica de sementes de várias espécies (AOSA, 1983; CARVALHO, 1994; PENARIOL, 1997).

Pelos dados obtidos através do teste de germinação, constatou-se que, com exceção do lote 8, todos os demais apresentaram padrão de germinação acima do exigido para a comercialização de sementes de trigo (MAPA, 2005). Observa-se ainda, que esse teste não foi eficiente em detectar maior variabilidade na qualidade fisiológica dos diferentes lotes analisados, pois apenas os lotes 3 e 8 diferiram entre si, mas não em relação aos demais, desse modo, apenas duas categorias relativas a qualidade das sementes podem ser distinguidas. Lima (2005), estudando o potencial fisiológico de lotes de sementes de trigo, confirmou que sementes com alto potencial fisiológico não diferem entre si através da utilização do teste de germinação. Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores, relativos a pouca eficiência do teste de germinação para a estratificação de lotes de sementes de trigo (MERTZ

et al., 2012) e, também, com lotes de sementes de trigo diferenciados pelo envelhecimento artificial das sementes em diferentes níveis fisiológicos (OHLSON et al., 2010; PEDROSO et al., 2010).

Marcos Filho (1999) relata que a utilização de lotes de sementes com essas características são apropriados para o desenvolvimento e a condução dos testes de vigor, os quais, têm por objetivo básico, detectar as diferenças de níveis fisiológicos diferentes em lotes de sementes que apresentaram poder germinativo semelhante.

Com relação aos testes de vigor, pela análise conjunta dos dados dos testes de: primeira contagem da germinação, emergência em campo, índice de velocidade de emergência, observa-se que esses testes permitiram a estratificação dos lotes em três categorias, ou seja, três níveis de vigor, alta qualidade (lotes 1, 3, 5, 7 e 9, sem envelhecimento acelerado), qualidade intermediária (2, 4 e 6) e baixa qualidade (8 e 10). Os três testes evidenciaram o lote 8 como o de qualidade inferior, e o lote 9 como o de melhor qualidade, e os demais lotes com qualidade intermediária. Para o índice de velocidade de emergência, melhores resultados foram observados para o lote 5.

Tabela 1 – Determinação dos valores obtidos para as variáveis: teor de água (TA-%), germinação (G-%), primeira contagem de germinação (PC-%), teste de frio (TF-%), envelhecimento acelerado (EA-%), emergência a campo (EM-%) e índice de velocidade de emergência (IVE-%) para dez lotes de sementes de trigo de diferentes níveis de vigor. UFSM, Santa Maria, 2013.

| Lotes ¹ | TA | G* | PC* | TF* | EA** | EM*** | IVE*** |
|--------------------|-------|----------|----------|----------|---------|----------|----------|
| 1 | 1148 | 95,00 ab | 93,00 ab | 96,00 ab | 77,00 d | 86,00 ab | 43,00 ab |
| 2 | 12,56 | 93,00 ab | 55,00 ab | 90,00 ab | 60,00 f | 56,00 ab | 29,00 ab |
| 3 | 11,11 | 98,00 a | 97,00 a | 98,00 ab | 83,00 c | 89,00 ab | 56,00 a |
| 4 | 11,85 | 95,00 ab | 72,00 ab | 94,00 ab | 67,00 e | 70,00 ab | 32,00 ab |
| 5 | 12,34 | 96,00 ab | 95,00 ab | 99,00 ab | 89,00 b | 90,00 ab | 58,00 a |
| 6 | 12,13 | 96,00 ab | 60,00 ab | 97,00 ab | 60,00 f | 47,00 ab | 21,00 ab |
| 7 | 11,67 | 96,00 ab | 93,00 ab | 99,00 a | 79,00 d | 85,00 ab | 52,00 ab |
| 8 | 12,68 | 71,00 b | 41,00 b | 72,00 b | 45,00 h | 42,00 b | 15,00 b |
| 9 | 11,34 | 98,00 a | 98,00 a | 97,00 ab | 94,00 a | 91,00 a | 56,00 a |
| 10 | 12,43 | 93,00 ab | 47,00 b | 73,00 ab | 51,00 g | 43,00 b | 15,00 ab |
| CV (%) | | 3,47 | 6,21 | 2,80 | 3,65 | 5,68 | 18,60 |
| Média | 11,99 | 93,45 | 75,60 | 91,85 | 70,87 | 70,32 | 37,98 |

*Médias não seguidas pela mesma letra na coluna, diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis, em nível de 5% de probabilidade erro.

**Médias não seguidas pela mesma letra na coluna, diferem entre si pelo teste Scott Knott, em nível de 5% de probabilidade erro.

***Médias não seguidas pela mesma letra na coluna, diferem entre si pelo teste de Friedman, em nível de 5% de probabilidade de erro.

¹Lotes de sementes de trigo: 1 Fundacep Horizonte, 2 Fundacep Horizonte submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 3 Quartzo, 4 Quartzo submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 5 Ônix, 6 Ônix submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 7 Mirante, 8 Mirante submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 9 Fundacep Campo Real, 10 Fundacep Campo Real submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas.

Embora o teste de primeira contagem de germinação seja um teste simples e de fácil execução, executado em conjunto com o teste de germinação, utilizando-se da mesma amostra e, que, geralmente, apresenta baixa sensibilidade, não detectando pequenas diferenças de vigor entre os lotes (BARROS et al., 2002), entretanto, no presente trabalho, possibilitou a estratificação dos lotes de sementes em três grupos.

Na avaliação da primeira contagem da germinação de cinco lotes de sementes de trigo, Mertz et al. (2012) obtiveram a estratificação do vigor das sementes subdividido em dois níveis: menor e maior vigor. Vidal (2010), trabalhado com cinco lotes de sementes de milho, conseguiram a classificação desses em três categorias fisiológicas. Já, em estudos realizados com sementes de arroz da cultivar IRGA 424, o teste de primeira contagem de germinação

mostrou-se mais promissor, permitindo uma separação dos lotes em quatro níveis de vigor (BARBIERI, 2011).

Com o processo de deterioração das sementes, o vigor decresce primeiro e a perda do poder germinativo é um dos últimos eventos que ocorrem (DELOUCHE; BASKIN, 1973; MATTHEWS; POWELL, 1981; TOLEDO; MARCOS FILHO, 1977; MEDINA; MARCOS FILHO, 1990), portanto, era esperado que o teste de emergência em campo fosse mais sensível do que o teste de germinação para detectar diferenças de potencial fisiológico entre os lotes de sementes de trigo avaliados.

Sementes com maior potencial fisiológico, principalmente pelo maior índice de velocidade de emergência, são importantes para a obtenção de plântulas que permaneçam um menor tempo submetidas as condições adversas de campo, como presença de patógenos, temperatura e umidade inadequadas e, também, pela obtenção de mudas mais precoces e uniformes (CASAROLI, 2005). Em estudos com lotes de sementes de pepino, foi possível uma diferenciação dos mesmos três níveis de qualidade fisiológica: inferior, intermediário e superior (MENEZES, 2009), do mesmo modo como no presente estudo. Casaroli (2005) não obteve resultados satisfatórios para estratificação de lotes de sementes de abóbora através do índice de velocidade de emergência, e Cardoso (2003) conseguiu apenas estratificar os sublotes de sementes de abobrinha em dois níveis fisiológicos. A discordância entre os resultados sugere, justamente, uma necessidade também de padronização desse teste para as diversas culturas, pois cada cultura tem características específicas e podem ser afetadas de forma diferente pelas possíveis condições adversas de campo.

O teste de frio separou os lotes em apenas duas categorias, considerando como de baixo vigor os lotes 8 e 10 e de alto vigor os demais. Como o trigo é uma cultura de cultivo de inverno e, conseqüentemente, adaptado as temperaturas amenas, provavelmente, o estresse ocasionado pela baixa temperatura utilizada para a condução do teste não foi suficiente para resultar em diferenças consideráveis, dessa forma, o teste de frio não é o mais indicado como teste de vigor para a cultura do trigo.

O teste de envelhecimento acelerado apresentou maior sensibilidade para estratificação dos lotes de sementes de trigo em relação ao vigor, em que todos os lotes deferiram estatisticamente entre si. O lote 9 apresentou maior porcentagem de plântulas normais após o envelhecimento (94%) e o lote 8, o de menor vigor, com 45% de plântulas normais. Os lotes 3 e 5, mesmo sob condições adversas, favoráveis à deterioração, ainda apresentaram padrão de germinação acima do exigido para a comercialização de sementes de trigo (MAPA, 2005), com 83% e 90%, respectivamente. Resultados obtidos por Pedroso et al. (2010), indicam que

o teste de envelhecimento acelerado foi eficiente para separar cultivares de sementes de trigo em diferentes níveis de vigor, porém, o período de exposição das sementes às condições de estresse, foi de 96 horas à temperatura de 42°C. Modarresi et al. (2002) observaram que utilizando a combinação de 43° C/72 horas ou 45° C/72 horas, a estratificação de lotes de sementes de trigo em níveis de vigor é mais eficiente.

Para as cultivares IAC-350 e IAC-370 de trigo, o teste de envelhecimento acelerado mostrou-se também ser o mais sensível às diferenças menos acentuadas de vigor, quando comparado a outros testes (LIMA, 2005).

Com relação aos testes baseados no desempenho de plântulas, massa seca e comprimento de plântulas, tanto de parte aérea como de raiz (Tabela 2), observa-se que nenhum desses foi eficiente em detectar as variações na qualidade fisiológica dos diferentes lotes de sementes de trigo, pois não conseguiram estratificar os lotes de forma equivalentes aos demais testes de vigor já apresentados. Isso indica que, da mesma forma que o teste de germinação, esses testes têm limitações quando se objetiva efetuar o ranqueamento de lotes conforme o vigor das sementes e, ainda, necessitam ser complementados por demais testes de vigor (BARBIERI et al., 2013).

Alguns estudos com feijão-miúdo (BIAS et al., 1999) e alface (FRANZIN, 2003) identificaram dificuldades na estratificação de sublotos de sementes através da determinação do comprimento de plântula analisado manualmente, alegando que, para a avaliação do teste, são consideradas apenas as plântulas normais, as quais poderiam mascarar os resultados do teste, diminuindo as diferenças existentes entre os sublotos. No entanto, há indicação de que o comprimento de plântulas pode ser um teste eficiente na avaliação da qualidade fisiológica das sementes, por meio de métodos de análise computadorizada de imagens (MARCOS FILHO, 2001; SAKO et al., 2001). Diferenças não significativas entre lotes de alface, em relação à fitomassa seca também foram obtidas por Franzin et al. (2004). Contrastando com os resultados obtidos, em estudo realizado com sementes de arroz, tanto a variável comprimento de plântula, quanto a fitomassa seca conseguiu a estratificação do vigor em três níveis (BARBIERI, 2011). Henning et al. (2010), em estudos com soja, verificaram que em relação ao comprimento de plântula, sementes mais vigorosas dão origem a plântulas de maiores comprimentos e, tratando-se da produção de massa seca de plântulas, também, concluíram que sementes mais vigorosas produzem plântulas com maior massa seca, em relação às sementes menos vigorosas.

Tabela 2 – Determinação dos valores obtidos para as variáveis: massa seca de parte aérea (MSPA-g), massa seca de raiz (MSR-g), massa seca total de plântulas (MST-g), comprimento de parte aérea (CPA-cm), comprimento de raiz (CPR-cm) e comprimento total de plântulas (CTO-cm) para dez lotes de sementes de trigo de diferentes níveis de vigor. UFSM, Santa Maria, 2013.

| Lotes ¹ | MSPA | MSR | MST | CPA | CPR | CTO |
|--------------------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 1 | 0,0800 a* | 0,0950 b | 0,1725 b | 11,105 b | 19,703 b | 31,780 b |
| 2 | 0,0775 a | 0,0875 b | 0,1600 b | 10,883 c | 17,523 c | 28,406 c |
| 3 | 0,0850 a | 0,0800 b | 0,1650 b | 12,223 b | 20,149 b | 32,373 b |
| 4 | 0,0800 a | 0,0775 b | 0,1650 b | 11,096 d | 17,133 c | 27,230 d |
| 5 | 0,0925 a | 0,1150 a | 0,2025 a | 13,635 a | 20,980 a | 34,615 a |
| 6 | 0,0675 a | 0,0825 b | 0,1525 b | 11,105 c | 17,493 c | 28,598 c |
| 7 | 0,0750 a | 0,0870 b | 0,1650 b | 12,953 a | 20,743 a | 33,696 a |
| 8 | 0,0650 a | 0,0800 b | 0,1450 b | 9,662 d | 16,070 d | 25,733 d |
| 9 | 0,0775 a | 0,0750 b | 0,1525 b | 12,013 b | 19,248 b | 31,261 b |
| 10 | 0,0750 a | 0,0800 b | 0,1525 b | 11,003 c | 17,745 c | 28,748 c |
| CV (%) | 10,80 | 10,82 | 8,78 | 5,07 | 4,25 | 4,56 |
| Média | 0,077 | 0,086 | 0,1627 | 11,565 | 18,68 | 30,24 |

*Médias não seguidas pela mesma letra na coluna, diferem entre si pelo teste Scott Knott, em nível de 5% de probabilidade de erro.

¹Lotes de sementes de trigo: 1 Fundacep Horizonte, 2 Fundacep Horizonte submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 3 Quartzo, 4 Quartzo submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 5 Ônix, 6 Ônix submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 7 Mirante, 8 Mirante submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 9 Fundacep Campo Real, 10 Fundacep Campo Real submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas.

1.4.2 Condutividade elétrica massal

Os resultados do teste de condutividade elétrica massal para os 10 lotes estudados e volumes de água, com variações no número de sementes e período de embebição estão apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5. Pela análise de variância (Apêndice E), houve interação significativa entre os fatores: lotes e volumes de água, utilizados para a embebição de sementes de trigo, a partir de cinco horas de embebição, para todas as variações de número de sementes utilizadas.

Para o número de sementes (25, 50 e 75) e volumes de embebição utilizados (25, 50 e 75mL), constata-se que utilizando o volume de 25mL obteve-se resultado adequado, pois permitiu um ranqueamento dos lotes em categorias fisiológicas, independente do número de

sementes utilizado. Quanto ao período de embebição das sementes, 8 e 24 horas foram os tempo que permitiram melhor estratificação dos lotes. Dessa forma, há possibilidade da redução do período de embebição no teste de condutividade elétrica massal de 24 para 8 horas (Tabelas 3, 4 e 5).

Os lotes foram estratificados em três diferentes níveis de vigor, mostrando uma estreita relação com dados de caracterização inicial como primeira contagem de germinação, emergência em campo e índice de velocidade de emergência e com o envelhecimento acelerado. Os lotes 3, 5 e 9 foram considerados como de melhor qualidade fisiológica, enquanto os lotes 8 e 10, como de qualidade inferior (Tabelas 3, 4 e 5).

Trabalhos desenvolvidos com sementes de mamona, em função de diferentes períodos de embebição e com o volume de água de imersão de 25mL, mostraram que esse volume também foi capaz de proporcionar resultados satisfatórios sobre a condutividade elétrica massal das sementes, porém até as 12 horas de condução do teste (BRAGA JUNIOR, 2009). Para sementes de espécies de solanáceas, a combinação e utilização de 25 sementes embebidas em 25mL de água, em período menor do que 24 horas, estratificou lotes dessas sementes em diferentes níveis de vigor (CARVALHO, 2009). O período de uma hora de embebição de 25 sementes embebidas em 25mL de água deionizada possibilita a identificação dos níveis de vigor dos lotes de sementes de girassol (HAESBAERT, 2013). No entanto, o teste de condutividade elétrica conduzido em 50mL de água permitiu a separação dos lotes a partir de uma hora de embebição, mostrando-se promissor na avaliação da qualidade das sementes de azevém (LOPES; FRANKE, 2010), ainda, com sementes de rúcula, verifica-se que as condições de hidratação mais adequadas para a condução do teste de condutividade elétrica massal é em 50mL de água por quatro horas (ALVES; SÁ; 2009), já, para sementes de aveia preta sem casca imersas em 75mL de água destilada e um período de imersão de 8 horas permitiu a estratificação dos lotes em diferentes níveis de vigor (MENEZES et al., 2007).

Para os volumes de embebição de 50 e 75mL, independente do número de sementes e do período de embebição utilizados, o ranqueamento dos lotes não ocorreu de forma adequada, diferindo dos resultados obtidos para os demais testes de vigor. Isso pode ser explicado porque nesses volumes ocorreu um efeito de diluição dos produtos lixiviados pelas células, dessa forma não apresentando sensibilidade suficiente para detecção de pequenas diferenças. Barbieri (2011), trabalhando com sementes de arroz, também observou esse efeito de diluição dos lixiviados, à medida que houve aumento do volume de água utilizado. Esses resultados vão ao encontro àqueles obtidos por Oliveira et al. (2012), em que o aumento no

volume de água, mantendo-se constantes os demais fatores (temperatura, número de sementes e período de embebição), estabeleceu, em geral, relação direta com a diminuição no valor da lixiviação. Com volume de 50mL, foram observados os maiores valores de condutividade elétrica e, à medida em que houve aumento no volume de água, os valores da condutividade decresceram gradativamente.

Ainda, cabe ressaltar o tamanho reduzido da semente de trigo, a qual, conseqüentemente, lixívia uma menor quantidade de exudatos, em relação a sementes maiores, em mesmos volumes de água de embebição, como, por exemplo, a semente de feijão e de soja. Testes de condutividade elétrica para sementes de feijão-musgo-verde, utilizando-se 50 sementes embebidas em 75mL de água, demonstraram valores de lixiviação elevados a partir de leitura realizada a 6 horas de embebição das sementes (ZONTA et al., 2011). Rosa (2009) encontrou valores superiores de condutividade elétrica massal, em relação aos encontrados no presente trabalho, utilizando 50 sementes de soja em 75mL de solução de hidratação. Marcos Filho; Dias (1996) obtiveram valores de condutividade elétrica superiores aos encontrados nesse trabalho, em leitura realizada às 24 horas, para sementes de soja, em volumes de embebição de 50 e 75mL, com amostras de 25 sementes.

Com relação ao período de embebição, observou-se um aumento progressivo das médias de condutividade elétrica, com o aumento do período de embebição, resultado também encontrado por Lima (2005), em sementes de trigo. Foi necessário um período de 8 horas de embebição para que a estratificação dos lotes estabiliza-se de forma adequada, demonstrando a eficiência do teste na possibilidade de diminuição do uso do tempo padrão de imersão das sementes que é de 24 horas. Resultados que corroboram com os obtidos em sementes de arroz, abobrinha e de aveia preta, em que o tempo de imersão das sementes considerado eficiente para realização do teste de condutividade elétrica massal foi a partir de 8 horas (BARBIERI, 2011; MENEZES et al., 2007; DUTRA; VIEIRA, 2006).

Da mesma forma, outros autores encontraram resultados semelhantes, corroborando a possibilidade de diminuição do tempo de embebição das sementes durante o teste de condutividade elétrica massal. Pesquisas realizadas por Mertz et al. (2012), com sementes de trigo, e por Souza (2005), com sementes de mamona, mostraram que seis horas de embebição foram suficientes para distinguir os lotes em diferentes níveis de vigor. Para sementes de amendoim, o tempo de embebição encontrado para se distinguir lotes de diferentes níveis de vigor foi apenas de três horas (VANZOLINI; NAKAGAWA, 1999).

Através das médias dos dados gerais da condutividade elétrica massal, os melhores lotes foram: 3, 5 e 9; os lotes 1, 2, 4, 6, e 7, classificados como de qualidade intermediária; e, os lotes 8 e 10 como de baixa qualidade.

Inicialmente, a identificação de diferenças de qualidade entre os lotes é dificultada pela intensa lixiviação de eletrólitos, tanto pelas sementes com seu sistema de membrana celulares danificados, quanto por sementes ainda intactas. Mas, com o decorrer do tempo de embebição, uma estabilização na quantidade de exudatos celulares liberados pelas sementes vigorosas vai se estabilizando, em consequência da reorganização das suas membranas, o que, não ocorre com as sementes deterioradas. Desse modo, é uma possível classificação dos lotes de sementes em categorias distintas de vigor,

Quando os lotes de sementes estudados apresentam diferenças estreitas de qualidade, a identificação dos lotes de vigor intermediário constitui em um fator a ser discutido, pois, conforme o teste aplicado nos mesmos, podem ser classificados abaixo ou acima do seu real vigor (MIGUEL; MARCOS FILHO, 2002).

Tabela 3 – Médias do teste de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas de embebição de dez lotes de 25 sementes de trigo em 25, 50 e 75mL de água.

| Volume de água | | 25mL | | | | | | | |
|----------------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Lote | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 6h | 7h | 8h | 24h |
| 1 ¹ | 12,90 a* | 14,69 a | 19,18 a | 23,22 a | 31,43 b | 32,93 b | 35,18 b | 42,48 b | 55,88 b |
| 2 | 13,37 a | 14,50 a | 21,87 a | 23,95 a | 31,48 b | 32,73 b | 35,23 b | 42,24 b | 55,21 b |
| 3 | 13,34 a | 13,83 a | 18,04 a | 29,43 a | 27,19 a | 30,20 a | 32,44 a | 37,93 a | 49,66 a |
| 4 | 11,97 a | 13,82 a | 18,83 a | 24,67 a | 30,98 b | 34,23 b | 34,73 b | 42,40 b | 57,50 b |
| 5 | 10,78 a | 13,86 a | 18,65 a | 24,81 a | 31,46 b | 30,11 a | 32,36 a | 38,88 a | 51,24 a |
| 6 | 11,77 a | 13,10 a | 19,87 a | 24,76 a | 31,50 b | 33,75 b | 36,00 b | 42,15 b | 56,07 b |
| 7 | 12,11 a | 13,44 a | 18,84 a | 26,55 a | 31,45 b | 33,70 b | 35,70 b | 42,79 b | 56,61 b |
| 8 | 12,33 a | 14,73 a | 18,53 a | 21,79 a | 37,36 c | 40,36 c | 42,61 c | 54,31 d | 66,55 d |
| 9 | 12,29 a | 13,83 a | 21,37 a | 24,86 a | 31,03 b | 32,78 b | 34,03 b | 37,44 a | 53,45 a |
| 10 | 12,21 a | 13,43 a | 22,72 a | 24,22 a | 31,14 b | 33,39 b | 35,64 b | 48,52 c | 60,35 c |
| Média | 13,31 c** | 13,92 c | 19,79 c | 24,83 c | 31,51 c | 33,42 c | 35,40 c | 42,91 c | 56,25 c |
| Volume de água | | 50mL | | | | | | | |
| 1 | 12,12 a | 12,07 a | 15,40 a | 16,37 a | 21,38 a | 19,11 a | 21,38 a | 21,90 a | 27,55 a |
| 2 | 11,58 a | 13,23 a | 14,78 a | 17,58 a | 20,96 a | 20,76 a | 21,15 a | 21,80 a | 29,05 a |
| 3 | 11,88 a | 11,84 a | 16,39 a | 17,64 a | 21,62 a | 20,50 a | 21,90 a | 21,05 a | 27,55 a |
| 4 | 12,08 a | 12,18 a | 15,82 a | 17,07 a | 20,38 a | 20,00 a | 20,77 a | 21,57 a | 27,88 a |
| 5 | 10,44 a | 11,85 a | 13,29 a | 14,29 a | 21,67 a | 20,44 a | 21,46 a | 21,21 a | 27,19 a |
| 6 | 9,60 a | 11,72 a | 13,29 a | 14,38 a | 22,42 a | 21,32 a | 22,42 a | 22,95 a | 28,39 a |
| 7 | 11,60 a | 13,09 a | 15,65 a | 19,19 a | 22,16 a | 21,47 a | 22,16 a | 23,08 a | 32,40 a |
| 8 | 11,02 a | 13,27 a | 15,28 a | 16,76 a | 20,48 a | 20,41 a | 21,33 a | 22,13 a | 31,47 a |
| 9 | 11,88 a | 12,02 a | 17,30 a | 18,69 a | 22,19 a | 20,52 a | 22,16 a | 22,26 a | 27,09 a |
| 10 | 11,85 a | 12,02 a | 16,77 a | 18,08 a | 21,44 a | 21,69 a | 21,32 a | 22,51 a | 27,90 a |
| Média | 11,41 b | 12,33 b | 15,40 b | 17,01 b | 21,48 b | 20,62 b | 21,60 b | 22,04 b | 28,65 b |

| Volume de água | 75mL | | | | | | | | |
|----------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1 | 7,66 a | 8,89 a | 10,48 a | 10,78 a | 11,62 a | 13,69 a | 13,19 a | 13,61 a | 17,52 a |
| 2 | 7,05 a | 7,99 a | 8,83 a | 9,54 a | 10,24 a | 13,30 a | 13,35 a | 11,99 a | 18,95 a |
| 3 | 8,00 a | 8,74 a | 9,85 a | 10,86 a | 9,89 a | 13,93 a | 14,00 a | 15,69 a | 19,39 a |
| 4 | 7,63 a | 8,71 a | 9,79 a | 10,74 a | 11,37 a | 13,02 a | 13,60 a | 13,71 a | 17,08 a |
| 5 | 7,44 a | 8,32 a | 9,18 a | 10,03 a | 11,01 a | 14,16 a | 13,25 a | 12,81 a | 17,59 a |
| 6 | 5,66 a | 7,12 a | 7,50 a | 8,39 a | 9,14 a | 10,97 a | 13,37 a | 10,97 a | 19,32 a |
| 7 | 8,37 a | 9,35 a | 10,88 a | 12,05 a | 11,27 a | 14,49 a | 14,91 a | 15,21 a | 19,50 a |
| 8 | 7,26 a | 8,77 a | 9,80 a | 11,09 a | 11,44 a | 13,95 a | 14,49 a | 14,57 a | 20,81 a |
| 9 | 8,68 a | 10,08 a | 11,11 a | 12,11 a | 11,51 a | 14,51 a | 15,02 a | 15,21 a | 19,18 a |
| 10 | 7,71 a | 8,27 a | 9,18 a | 10,18 a | 11,09 a | 13,08 a | 14,24 a | 12,95 a | 20,68 a |
| Média | 7,55 a | 8,67 a | 9,66 a | 10,58 a | 10,86 a | 13,51 a | 13,94 a | 13,67 a | 19,00 a |
| CV (%) | 12,26 | 11,39 | 19,62 | 18,19 | 6,88 | 7,13 | 8,02 | 9,39 | 10,22 |
| Média Geral | 10,42 | 11,63 | 14,95 | 17,74 | 21,28 | 22,52 | 23,65 | 26,21 | 34,63 |

* Médias não seguidas pela mesma letra na coluna e em cada volume de água diferem pelo teste Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

** Médias não seguidas pela mesma letra na linha diferem pelo teste Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

¹Lotes de sementes de trigo: 1 Fundacep Horizonte, 2 Fundacep Horizonte submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 3 Quartzo, 4 Quartzo submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 5 Ônix, 6 Ônix submetida à metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 7 Mirante, 8 Mirante submetida à metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 9 Fundacep Campo Real, 10 Fundacep Campo Real submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas

Tabela 4 – Médias do teste de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas de embebição de dez lotes de 50 sementes de trigo em 25, 50 e 75mL de água.

| Volume de água | | 25mL | | | | | | | |
|----------------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Lote | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 6h | 7h | 8h | 24h |
| 1 ¹ | 14,67 a* | 17,78 a | 24,58 a | 27,28 a | 37,54 b | 40,58 b | 40,75 b | 43,47 b | 46,35 b |
| 2 | 15,38 a | 17,38 a | 23,82 a | 27,39 a | 37,07 b | 40,24 b | 40,37 b | 43,12 b | 49,25 c |
| 3 | 14,78 a | 17,93 a | 23,57 a | 26,88 a | 34,11 a | 37,21 a | 37,50 a | 40,25 a | 43,47 a |
| 4 | 14,78 a | 18,36 a | 24,85 a | 27,95 a | 37,09 b | 40,88 b | 40,98 b | 43,61 b | 50,39 c |
| 5 | 14,83 a | 17,32 a | 23,84 a | 26,88 a | 34,26 a | 37,71 a | 37,87 a | 39,87 a | 41,87 a |
| 6 | 15,51 a | 17,84 a | 24,26 a | 27,61 a | 37,07 b | 40,33 b | 40,64 b | 43,23 b | 50,95 c |
| 7 | 15,20 a | 17,99 a | 24,61 a | 30,14 a | 37,09 b | 40,69 b | 40,71 b | 43,16 b | 46,21 b |
| 8 | 15,68 a | 18,34 a | 24,45 a | 27,70 a | 42,92 c | 44,50 c | 44,81 c | 50,43 d | 58,21 e |
| 9 | 14,62 a | 17,45 a | 23,35 a | 26,04 a | 34,25 a | 37,60 a | 37,62 a | 40,98 a | 42,37 a |
| 10 | 15,49 a | 18,73 a | 24,24 a | 27,81 a | 34,34 b | 40,34 b | 40,58 b | 47,57 c | 53,44 d |
| Média | 15,04 c** | 17,91 c | 24,16 c | 27,57 c | 36,58 c | 40,01 c | 40,18 c | 43,57 a | 48,25 c |
| Volume de água | | 50mL | | | | | | | |
| 1 | 10,07 a | 12,27 a | 13,59 a | 16,15 a | 16,27 a | 16,46 a | 16,69 a | 16,99 a | 21,25 a |
| 2 | 9,97 a | 11,00 a | 12,45 a | 14,66 a | 15,59 a | 15,04 a | 15,41 a | 15,81 a | 19,50 a |
| 3 | 9,95 a | 14,66 b | 16,25 b | 19,43 b | 20,61 b | 20,33 b | 20,36 b | 20,98 b | 26,79 b |
| 4 | 10,72 a | 12,63 a | 14,32 a | 17,06 a | 18,26 a | 18,27 b | 18,37 b | 18,92 b | 24,70 b |
| 5 | 10,00 a | 11,92 a | 13,32 a | 15,80 a | 16,89 a | 16,79 a | 16,76 a | 17,32 a | 21,85 a |
| 6 | 8,48 a | 10,77 a | 12,22 a | 14,74 a | 15,86 a | 16,11 a | 16,53 a | 16,48 a | 20,66 a |
| 7 | 10,41 a | 14,29 b | 15,84 b | 18,90 b | 20,13 b | 20,38 b | 19,87 b | 20,41 b | 26,97 b |
| 8 | 10,73 a | 13,89 b | 15,74 b | 18,97 b | 20,39 b | 19,72 b | 20,36 b | 21,10 b | 28,47 b |
| 9 | 9,60 a | 15,26 b | 16,95 b | 20,06 b | 21,26 b | 20,59 b | 21,10 b | 21,52 b | 25,92 b |
| 10 | 10,12 a | 13,59 b | 15,42 b | 18,96 b | 19,46 b | 19,74 b | 19,62 b | 20,44 b | 25,41 b |
| Média | 10,01 b | 13,03 b | 14,61 b | 17,47 b | 18,47 b | 18,34 b | 18,51 b | 19,00 b | 24,15 b |

| Volume de água | 75mL | | | | | | | | |
|----------------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 1 | 6,29 a | 7,31 a | 8,01 a | 8,70 a | 9,34 a | 9,74 a | 10,15 a | 10,42 a |
| 2 | 6,77 a | 7,62 a | 8,43 a | 9,20 a | 10,10 a | 10,43 a | 10,90 a | 13,74 b | 17,65 b |
| 3 | 5,26 a | 9,21 a | 10,25 a | 9,63 a | 9,17 a | 9,06 a | 9,88 a | 11,18 a | 13,26 a |
| 4 | 6,96 a | 7,94 a | 8,93 a | 9,96 a | 10,24 a | 10,88 a | 10,50 a | 12,63 b | 16,31 b |
| 5 | 6,46 a | 7,32 a | 8,14 a | 8,93 a | 9,70 a | 10,23 a | 10,71 a | 11,02 a | 14,34 a |
| 6 | 5,83 a | 6,65 a | 7,51 a | 8,33 a | 9,05 a | 10,20 a | 10,02 a | 10,44 a | 12,98 a |
| 7 | 6,50 a | 9,03 a | 10,11 a | 9,84 a | 10,21 a | 10,96 a | 10,27 a | 13,66 b | 18,36 b |
| 8 | 7,25 a | 8,41 a | 9,68 a | 10,24 a | 10,13 a | 10,90 a | 11,09 a | 14,09 b | 19,74 b |
| 9 | 5,86 a | 8,93 a | 9,90 a | 9,87 a | 9,48 a | 9,64 a | 9,73 a | 12,09 a | 14,50 a |
| 10 | 7,03 a | 7,80 a | 9,02 a | 9,65 a | 10,46 a | 11,00 a | 11,56 a | 13,39 b | 16,80 b |
| Média | 6,42 a | 8,02 a | 9,00 a | 9,44 a | 9,79 a | 10,31 a | 10,48 a | 12,27 a | 15,73 a |
| CV (%) | 10,16 | 10,63 | 9,40 | 9,35 | 8,28 | 6,16 | 7,02 | 6,79 | 6,46 |
| Média Geral | 10,49 | 12,98 | 15,92 | 18,15 | 21,61 | 22,89 | 23,06 | 24,94 | 29,38 |

* Médias não seguidas pela mesma letra na coluna e em cada volume de água diferem pelo teste Scott-Knott em de 5% de probabilidade de erro.

** Médias não seguidas pela mesma letra na linha diferem pelo teste Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

1 Lotes de sementes de trigo: 1 Fundacep Horizonte, 2 Fundacep Horizonte submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 3 Quartzo, 4 Quartzo submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 5 Ônix, 6 Ônix submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 7 Mirante, 8 Mirante submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 9 Fundacep Campo Real, 10 Fundacep Campo Real submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas.

Tabela 5 – Médias do teste de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) após 1,2,3,4,5,6,7,8 e 24 horas de embebição de dez lotes de 75 sementes de trigo em 25, 50 e 75mL de água.

| Volume de água | | 25mL | | | | | | | |
|----------------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Lote | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 6h | 7h | 8h | 24h |
| 1 ¹ | 18,73 a* | 26,11 a | 25,48 a | 26,97 a | 28,38 a | 29,50 a | 30,64 a | 44,71 b | 52,12 b |
| 2 | 18,59 a | 27,28 a | 25,56 a | 27,31 a | 36,43 b | 37,97 b | 39,47 c | 49,27 c | 55,45 c |
| 3 | 17,80 a | 26,03 a | 24,54 a | 26,66 a | 29,03 a | 29,50 a | 31,80 a | 42,38 a | 48,26 a |
| 4 | 18,54 a | 26,60 a | 25,40 a | 27,38 a | 34,52 b | 36,45 b | 38,02 b | 49,04 c | 56,26 c |
| 5 | 17,50 a | 25,41 a | 24,98 a | 27,59 a | 28,26 a | 30,47 a | 31,56 a | 40,96 a | 48,56 a |
| 6 | 17,35 a | 25,35 a | 24,05 a | 27,05 a | 28,03 a | 29,29 a | 30,51 a | 49,45 c | 56,51 c |
| 7 | 18,64 a | 26,39 a | 25,06 a | 27,03 a | 34,52 b | 36,94 b | 37,62 b | 45,63 b | 52,76 b |
| 8 | 18,61 a | 26,00 a | 25,78 a | 27,36 a | 36,00 b | 37,74 b | 39,60 c | 53,37 d | 60,01 d |
| 9 | 17,77 a | 25,48 a | 24,53 a | 26,05 a | 28,62 a | 29,67 a | 30,23 a | 39,93 a | 48,38 a |
| 10 | 16,60 a | 26,35 a | 25,75 a | 27,08 a | 36,02 b | 35,39 b | 36,72 b | 53,90 d | 60,15 d |
| Média | 19,01 c** | 26,10 c | 25,11 c | 27,05 c | 31,98 c | 33,29 c | 34,62 c | 46,87 c | 53,85 c |
| Volume de água | | 50mL | | | | | | | |
| 1 | 9,73 a | 12,67 a | 14,03 a | 17,12 a | 20,24 a | 22,70 a | 15,03 a | 28,16 a | 33,47 a |
| 2 | 9,97 a | 13,12 a | 14,03 a | 18,12 a | 23,10 b | 26,11 b | 28,27 b | 32,59 b | 37,45 b |
| 3 | 9,69 a | 12,16 a | 13,70 a | 17,73 a | 19,60 a | 22,15 a | 14,78 a | 28,06 a | 33,34 a |
| 4 | 9,89 a | 12,94 a | 14,34 a | 18,11 a | 23,47 b | 26,82 b | 28,33 b | 32,56 b | 36,76 b |
| 5 | 9,52 a | 12,52 a | 13,01 a | 17,85 a | 20,19 a | 22,33 a | 15,50 a | 28,62 a | 33,78 a |
| 6 | 9,14 a | 13,29 a | 14,73 a | 18,22 a | 19,95 a | 22,03 a | 15,49 a | 28,61 a | 33,78 a |
| 7 | 9,84 a | 13,76 a | 14,81 a | 18,72 a | 23,23 b | 26,43 b | 29,43 b | 32,08 b | 37,63 b |
| 8 | 9,52 a | 13,29 a | 14,34 a | 18,18 a | 23,75 b | 26,47 b | 28,53 b | 32,07 b | 37,51 b |
| 9 | 9,70 a | 12,06 a | 13,50 a | 18,79 a | 20,27 a | 22,21 a | 15,43 a | 28,59 a | 34,00 a |
| 10 | 9,43 a | 12,68 a | 14,27 a | 18,04 a | 23,02 b | 26,82 b | 28,70 b | 32,43 b | 37,51 b |
| Média | 9,64 b | 12,85 b | 14,08 b | 18,10 b | 21,68 b | 24,41 b | 21,95 b | 30,38 b | 35,49 b |

| Volume de água | 75mL | | | | | | | | |
|----------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 1 | 6,72 a | 7,54 a | 8,30 a | 9,08 a | 9,66 a | 10,07 a | 12,44 a | 16,72 a |
| 2 | 6,54 a | 7,45 a | 8,35 a | 9,24 a | 9,78 a | 12,17 b | 15,42 b | 20,89 b | 28,02 b |
| 3 | 5,54 a | 6,27 a | 7,93 a | 8,04 a | 11,46 a | 10,74 a | 12,57 a | 17,16 a | 23,09 a |
| 4 | 6,38 a | 7,39 a | 9,24 a | 9,17 a | 11,20 a | 12,05 b | 15,67 b | 20,81 b | 28,92 b |
| 5 | 6,22 a | 7,03 a | 7,77 a | 8,76 a | 9,37 a | 9,81 a | 12,01 a | 16,54 a | 23,48 a |
| 6 | 5,28 a | 6,14 a | 7,42 a | 7,96 a | 8,66 a | 10,66 a | 12,41 a | 16,99 a | 23,25 a |
| 7 | 6,65 a | 6,79 a | 8,09 a | 9,29 a | 11,86 a | 12,50 b | 15,53 b | 21,20 b | 29,43 b |
| 8 | 6,82 a | 6,92 a | 8,26 a | 9,06 a | 11,17 a | 12,55 b | 15,38 b | 21,74 b | 28,95 b |
| 9 | 5,57 a | 6,52 a | 7,58 a | 8,09 a | 12,04 a | 9,38 a | 12,35 a | 16,18 a | 23,38 a |
| 10 | 5,95 a | 6,70 a | 7,48 a | 8,43 a | 9,00 a | 12,56 b | 15,60 b | 20,36 b | 28,54 b |
| Média | 6,17 a | 6,88 a | 8,04 a | 8,71 a | 10,42 a | 11,25 a | 13,94 a | 18,86 a | 26,04 a |
| CV (%) | 9,88 | 8,01 | 6,96 | 8,17 | 9,57 | 8,42 | 6,48 | 4,94 | 5,10 |
| Média Geral | 11,27 | 15,27 | 15,74 | 17,95 | 21,36 | 22,98 | 23,50 | 32,03 | 38,46 |

* Médias não seguidas pela mesma letra na coluna e em cada volume de água diferem pelo teste Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

** Médias não seguidas pela mesma letra na linha diferem pelo teste Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

¹Lotes de sementes de trigo: 1 Fundacep Horizonte, 2 Fundacep Horizonte submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 3 Quartzo, 4 Quartzo submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 5 Ônix, 6 Ônix submetida à metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 7 Mirante, 8 Mirante submetida à metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 9 Fundacep Campo Real, 10 Fundacep Campo Real submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas.

Para o teste de condutividade elétrica massal realizou-se a análise da correlação de Pearson (r) entre os valores obtidos através das leituras de condutividade para cada uma das combinações de volume de água de hidratação (25, 50 e 75mL), número de sementes da amostra (25, 50 e 75) e tempo de embebição (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas) e os valores obtidos para as variáveis: germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em campo e índice de velocidade de emergência (Tabelas 6, 7, 8, 9 e 10).

Os dados de correlação, obtidos entre a condutividade elétrica massal e os demais testes de germinação e vigor, comprovam o melhor desempenho obtido quando foi utilizado o volume de embebição de 25mL (Tabelas 6, 7, 8, 9 e 10), pois, nesses casos, foram obtidas altas correlações negativas e significativas, indicando que os lotes de sementes de trigo utilizados no estudo apresentaram a mesma tendência de comportamento para todos esses testes. As correlações foram, praticamente, todas negativas, indicando que quanto maiores os valores de condutividade elétrica menores serão os valores das médias obtidas para o teste de germinação e para os testes de vigor. Esses resultados são esperados, pois sementes com maior grau de deterioração são mais susceptíveis ao dano de embebição e, portanto, ao aumento de lixiviados na água de imersão, o que promove o aumento da condutividade elétrica da água (MATTHEWS; POWELL, 2006).

As maiores correlações negativas foram obtidas nos períodos de 8 e 24 horas de embebição das sementes, concordando com os resultados obtidos na comparação de médias para os testes de germinação e os testes de vigor (tabela 1). Observa-se ainda que a combinação de 75 sementes embebidas em volume de 25mL de água deionizada foi o que apresentou melhor correlação para todos os testes de vigor (tabela 1), confirmando o efeito da diluição.

Trabalhando com condutividade elétrica massal em sementes de girassol, Haesbaert (2013) observou que a combinação de 25mL de água de embebição e 25 sementes, promoveu correlações maiores entre os valores de condutividade elétrica massal e a emergência em campo, porém, já em leituras realizadas a partir de 1 hora. Ainda, com sementes de girassol, Rossetto; Braz (2009) encontraram correlação negativa e significativa entre a condutividade elétrica massal e a emergência em campo. Com sementes de feijão-musgo-verde, também observou-se correlação alta e significativa entre o teste de condutividade elétrica massal e emergência em campo (ZONTA et al., 2011). Para as cultivares de feijão-caupi BRS Guariba e BRS Marataoã, os coeficientes de correlação de Pearson entre os testes de germinação, tetrazólio, envelhecimento acelerado, emergência em campo, índice de velocidade de

emergência, massa seca de plântulas e altura de plântulas, foram todos negativos e significativos, em relação ao teste de condutividade elétrica massal (OLIVEIRA, 2012).

Estudos da correlação entre os dados obtidos pelo teste de condutividade elétrica massal, utilizando 25 sementes de arroz imersas em 50 e 75mL de água, e as variáveis de germinação, primeira contagem, teste de frio, estatura de plântulas, fitomassa seca e emergência em campo, demonstraram correlações altas e significativas apenas para o teste de emergência em campo, para ambos os volumes (BARBIERI, 2011). Esses são corroborados por aqueles obtidos por demais autores, como: Àvila et al. (2005), Alves; Sá (2010), em trabalhos com sementes de milho e canola, respectivamente.

Tabela 6 – Coeficientes de correlação de Pearson entre condutividade elétrica massal e o teste de germinação, em diferentes combinações de volume de água, número de sementes e tempo de embebição. Santa Maria, RS. 2013.

| Número de sementes | | 25 Sementes | 50 Sementes | 75 Sementes |
|--------------------|-------|-------------|-------------|-------------|
| Volume | Tempo | | | |
| 25mL | 1H | -0,020 | -0,556 | -0,269 |
| | 2H | -0,530 | -0,392 | -0,174 |
| | 3h | 0,162 | -0,301 | -0,574 |
| | 4h | -0,620* | -0,367 | -0,374 |
| | 5H | -0,882* | -0,899* | -0,503 |
| | 6H | -0,888* | -0,822* | -0,518 |
| | 7H | -0,925* | -0,832* | -0,552 |
| | 8H | -0,877* | -0,834* | -0,605 |
| | 24H | -0,843* | -0,773* | -0,613* |
| 50mL | 1H | 0,150 | -0,434 | 0,163 |
| | 2H | -0,209 | -0,082 | -0,373 |
| | 3H | 0,065 | -0,133 | -0,236 |
| | 4H | 0,059 | -0,164 | -0,020 |
| | 5H | 0,574 | -0,202 | -0,533 |
| | 6H | 0,051 | -0,135 | -0,450 |
| | 7H | 0,304 | -0,171 | -0,450 |
| | 8H | -0,081 | -0,244 | -0,416 |
| | 24H | -0,557 | -0,401 | -0,516 |
| 75mL | 1H | 0,188 | -0,608 | -0,500 |
| | 2H | 0,037 | -0,050 | -0,143 |
| | 3H | 0,039 | -0,150 | -0,177 |
| | 4H | -0,068 | -0,422 | -0,325 |
| | 5H | 0,314 | -0,366 | -0,093 |
| | 6H | -0,079 | -0,447 | -0,405 |
| | 7H | -0,195 | -0,531 | -0,424 |
| | 8H | -0,079 | -0,527 | -0,550 |
| | 24H | -0,507 | -0,671* | -0,464 |

* Significativo pelo teste t bilateral, em 5% de probabilidade de erro.

Tabela 7 – Coeficientes de correlação de Pearson entre a condutividade elétrica massal e a primeira contagem de germinação, em diferentes combinações de volume de água, número de sementes e tempo de embebição. Santa Maria, RS. 2013.

| Número de sementes | | 25 Sementes | 50 Sementes | 75 Sementes |
|--------------------|-------|-------------|-------------|-------------|
| Volume | Tempo | | | |
| 25mL | 1H | -0,073 | -0,726* | 0,140 |
| | 2H | -0,112 | -0,525 | -0,282 |
| | 3h | -0,400 | -0,306 | -0,389 |
| | 4h | 0,583 | -0,651* | -0,453 |
| | 5H | -0,591 | -0,730* | -0,675* |
| | 6H | -0,662* | -0,716* | -0,601 |
| | 7H | -0,703* | -0,732* | -0,631* |
| | 8H | -0,806* | -0,819* | -0,940* |
| | 24H | -0,774* | -0,925* | -0,933* |
| 50mL | 1H | 0,252 | -0,061 | 0,309 |
| | 2H | -0,209 | 0,338 | -0,449 |
| | 3H | 0,141 | 0,262 | -0,477 |
| | 4H | 0,103 | 0,191 | -0,070 |
| | 5H | 0,476 | 0,173 | -0,617* |
| | 6H | -0,359 | 0,197 | -0,601 |
| | 7H | 0,360 | 0,039 | -0,609 |
| | 8H | -0,289 | 0,112 | -0,642* |
| | 24H | -0,310 | 0,027 | -0,679* |
| 75mL | 1H | 0,564 | -0,651 | -0,164 |
| | 2H | 0,550 | 0,352 | -0,066 |
| | 3H | 0,572 | 0,226 | -0,039 |
| | 4H | 0,477 | -0,116 | -0,137 |
| | 5H | 0,314 | -0,480 | 0,139 |
| | 6H | 0,509 | -0,626* | -0,532 |
| | 7H | 0,081 | -0,741* | -0,611 |
| | 8H | 0,496 | -0,537 | -0,635* |
| | 24H | -0,538 | -0,553 | -0,568 |

* Significativo pelo teste t bilateral, em 5% de probabilidade de erro.

Tabela 8 – Coeficientes de correlação de Pearson entre a condutividade elétrica massal e o teste de envelhecimento acelerado, em diferentes combinações de volume de água, número de sementes e tempo de embebição. Santa Maria, RS. 2013.

| Número de sementes | | 25 Sementes | 50 Sementes | 75 Sementes |
|--------------------|-------|-------------|-------------|-------------|
| Volume | Tempo | | | |
| 25mL | 1H | -0,153 | -0,702* | 0,037 |
| | 2H | -0,139 | -0,649* | -0,408 |
| | 3h | -0,261 | -0,475 | -0,443 |
| | 4h | 0,533 | -0,776* | -0,480 |
| | 5H | -0,570 | -0,809* | -0,689* |
| | 6H | -0,705* | -0,805* | -0,614* |
| | 7H | -0,749* | -0,822* | -0,653* |
| | 8H | -0,865* | -0,875* | -0,984* |
| | 24H | -0,820* | -0,970* | -0,966* |
| 50mL | 1H | 0,170 | -0,146 | 0,274 |
| | 2H | -0,209 | 0,302 | -0,531 |
| | 3H | 0,107 | 0,231 | -0,610 |
| | 4H | 0,066 | 0,155 | 0,043 |
| | 5H | 0,515 | 0,153 | -0,642* |
| | 6H | -0,290 | 0,151 | -0,643* |
| | 7H | 0,372 | 0,014 | -0,637* |
| | 8H | -0,311 | 0,082 | -0,647* |
| | 24H | -0,397 | -0,042 | -0,681* |
| 75mL | 1H | 0,542 | -0,643* | -0,254 |
| | 2H | 0,533 | 0,312 | -0,098 |
| | 3H | 0,506 | 0,186 | -0,133 |
| | 4H | 0,422 | -0,127 | -0,213 |
| | 5H | 0,314 | -0,470 | 0,107 |
| | 6H | 0,507 | -0,629* | -0,516 |
| | 7H | 0,092 | -0,708* | -0,654* |
| | 8H | 0,412 | -0,512 | -0,687* |
| | 24H | -0,524 | -0,557 | -0,608 |

* Significativo pelo teste t bilateral, em 5% de probabilidade de erro.

Tabela 9 – Coeficientes de correlação de Pearson entre a condutividade elétrica massal e a emergência em campo, em diferentes combinações de volume de água, número de sementes e tempo de embebição. Santa Maria, RS. 2013.

| Número de sementes | | 25 Sementes | 50 Sementes | 75 Sementes |
|--------------------|-------|-------------|-------------|-------------|
| Volume | Tempo | | | |
| 25mL | 1H | -0,035 | -0,758* | 0,228 |
| | 2H | 0,020 | -0,547 | -0,223 |
| | 3h | -0,405 | -0,317 | -0,249 |
| | 4h | 0,532 | -0,660* | -0,395 |
| | 5H | -0,541 | -0,695* | -0,588 |
| | 6H | -0,634* | -0,687* | -0,504 |
| | 7H | -0,680* | -0,705* | -0,531 |
| | 8H | -0,775* | -0,795* | -0,938* |
| | 24H | -0,748* | -0,916* | -0,934* |
| 50mL | 1H | 0,334 | 0,075 | 0,432 |
| | 2H | -0,209 | 0,354 | -0,468 |
| | 3H | 0,170 | 0,280 | -0,551 |
| | 4H | 0,145 | 0,202 | -0,089 |
| | 5H | 0,342 | 0,186 | -0,532 |
| | 6H | -0,430 | 0,190 | -0,523 |
| | 7H | 0,227 | -0,032 | -0,536 |
| | 8H | -0,394 | 0,121 | -0,565 |
| | 24H | -0,293 | 0,045 | -0,601 |
| 75mL | 1H | 0,632* | -0,558 | -0,046 |
| | 2H | 0,606 | 0,398 | 0,060 |
| | 3H | 0,632 | 0,269 | 0,066 |
| | 4H | 0,534* | -0,027 | -0,024 |
| | 5H | 0,314 | -0,387 | 0,181 |
| | 6H | 0,616* | -0,595 | -0,485 |
| | 7H | 0,077 | -0,667* | -0,540 |
| | 8H | 0,541 | -0,444 | -0,560 |
| | 24H | -0,569 | -0,458 | -0,496 |

* Significativo pelo teste t bilateral, em 5% de probabilidade de erro.

Tabela 10 – Coeficientes de correlação de Pearson entre a condutividade elétrica massal e o índice de velocidade de emergência, em diferentes combinações de volume de água, número de sementes. Santa Maria, RS. 2013.

| Número de sementes | | 25 Sementes | 50 Sementes | 75 Sementes |
|--------------------|-------|-------------|-------------|-------------|
| Volume | Tempo | | | |
| 25mL | 1H | -0,077 | -0,652* | 0,135 |
| | 2H | -0,056 | -0,617* | -0,344 |
| | 3h | -0,374 | -0,453 | -0,338 |
| | 4h | 0,603 | -0,720* | -0,395 |
| | 5H | -0,552 | -0,748* | -0,584 |
| | 6H | -0,676* | -0,754* | -0,499 |
| | 7H | -0,701* | -0,769* | -0,524 |
| | 8H | -0,803* | -0,838* | -0,962* |
| | 24H | -0,798* | -0,946* | -0,967* |
| 50mL | 1H | 0,218 | 0,003 | 0,371 |
| | 2H | -0,209 | 0,362 | -0,464 |
| | 3H | 0,114 | 0,289 | -0,601 |
| | 4H | 0,131 | 0,212 | 0,017 |
| | 5H | 0,426 | 0,218 | -0,554 |
| | 6H | -0,282 | 0,210 | -0,552 |
| | 7H | 0,321 | 0,007 | -0,542 |
| | 8H | -0,386 | 0,140 | -0,568 |
| | 24H | -0,259 | 0,058 | -0,593 |
| 75mL | 1H | 0,600 | -0,603 | -0,131 |
| | 2H | 0,557 | 0,433 | -0,063 |
| | 3H | 0,555 | 0,309 | -0,059 |
| | 4H | 0,488 | -0,024 | -0,104 |
| | 5H | 0,314* | -0,393 | 0,175 |
| | 6H | 0,623 | -0,602 | -0,467 |
| | 7H | 0,125 | -0,646* | -0,559 |
| | 8H | 0,521 | -0,404 | -0,564 |
| | 24H | -0,466 | -0,434 | -0,509 |

* Significativo pelo teste t bilateral, em 5% de probabilidade de erro.

1.4.3 Condutividade elétrica individual

Os resultados do teste de condutividade elétrica individual com variações no período de embebição para os dez lotes de sementes de trigo estão apresentados na Tabela 11. Pela

análise de variância (Apêndice F), houve diferença significativa entre os lotes em todos os tempos de embebição testados.

Tabela 11 – Médias do teste de condutividade elétrica individual após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas de embebição para dez lotes de sementes de trigo. UFSM, Santa Maria, 2013.

| Lote | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 6h | 7h | 8h | 24h |
|----------------|---------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1 ¹ | 2,76 b* | 2,84 a | 4,30 b | 5,05 b | 7,08 b | 8,64 b | 8,64 b | 10,78 b | 11,45 c |
| 2 | 3,40 b | 4,01 b | 4,92 b | 6,20 c | 9,75 c | 11,45 d | 12,07 c | 13,04 d | 15,63 e |
| 3 | 1,71 a | 2,53 a | 2,51 a | 3,45 a | 3,62 a | 4,35 a | 4,88 a | 4,94 a | 10,87 c |
| 4 | 3,02 b | 3,32 b | 4,30 b | 5,88 c | 9,68 c | 10,76 c | 11,25 c | 11,79 c | 13,06 d |
| 5 | 1,70 a | 2,53 a | 2,49 a | 3,54 a | 4,10 a | 4,92 b | 5,05 a | 5,20 a | 9,20 b |
| 6 | 3,32 b | 3,94 b | 4,92 b | 5,92 c | 9,88 c | 11,09 c | 11,82 c | 12,61 d | 13,84 d |
| 7 | 2,54 b | 2,93 a | 4,01 b | 5,20 b | 6,51 b | 8,64 b | 8,86 b | 10,01 b | 11,60 c |
| 8 | 6,20 d | 6,51 d | 7,09 c | 8,86 d | 10,78 d | 11,78 d | 13,84 d | 15,63 e | 20,35 g |
| 9 | 1,45 a | 2,12 a | 2,01 a | 3,32 a | 3,54 a | 4,17 a | 4,36 a | 4,89 a | 7,49 a |
| 10 | 4,90 c | 4,92 c | 4,91 b | 6,50 c | 7,01 b | 8,86 b | 13,83 d | 15,63 e | 17,93 f |
| CV (%) | 52,34 | 50,23 | 42,70 | 34,85 | 27,78 | 22,86 | 21,62 | 23,08 | 21,18 |
| Média | 3,10 | 3,56 | 4,15 | 5,39 | 7,21 | 8,47 | 9,47 | 10,45 | 13,14 |

* Médias não seguidas pela mesma letra na coluna diferem pelo teste Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

¹Lotes de sementes de trigo: 1 Fundacep Horizonte, 2 Fundacep Horizonte submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 3 Quartzzo, 4 Quartzzo submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 5 Ônix, 6 Ônix submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 7 Mirante, 8 Mirante submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 9 Fundacep Campo Real, 10 Fundacep Campo Real submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas.

De acordo com os dados, pode-se verificar a eficiência do teste de condutividade elétrica individual na estratificação dos lotes de sementes de trigo em diferentes níveis de vigor, pois mesmo na primeira leitura, realizada após uma hora de embebição das sementes, já foi possível detectar diferenças na qualidade destas. Estudos de condutividade elétrica individual, testando diferentes tempos de embebição de sementes de girassol estratificaram os lotes em distintas qualidades fisiológicas a partir da primeira hora, dessa forma, considera-se esse teste bastante promissor para a espécie em questão (HAESBAERT, 2013). Barbieri (2011), em experimentos com sementes de arroz, cultivar IRGA 424, estratificou lotes de qualidade de sementes, em três níveis, na primeira e segunda hora de embebição. Também em girassol, Anfinrud; Schneiter (1984) verificaram correlação significativa entre o teste de condutividade elétrica pelo sistema individual e o de emergência de plântulas.

Entretanto, a estabilização do ranqueamento dos lotes só pode ser confirmada a partir da terceira leitura, ou seja, com três horas de embebição das sementes, concordando com dados obtidos por Mertz et al. (2012), os quais indicam a possibilidade de redução do período de embebição no teste de condutividade elétrica individual de sementes de trigo para três horas. Resultado considerado importante, pois a possibilidade da redução do tempo da embebição das sementes poderá oferecer indicações mais rápidas a respeito do vigor das sementes.

De acordo com esse teste, os melhores lotes foram 1, 3, 5, 7 e 9, enquanto, os lotes 2, 4, 6, foram classificados como de vigor intermediário e os lotes 8 e 10, como de baixo vigor. Essa classificação vem ao encontro aos dados obtidos nos testes, já realizados no presente estudo, de primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em campo e índice de velocidade de emergência. Fato que demonstra a sensibilidade do teste de condutividade elétrica individual em conseguir detectar até mesmo pequenas variações de qualidade entre os diferentes lotes. Mertz et al. (2012) verificaram que os resultados do teste de condutividade elétrica em lotes de sementes de trigo estão condizentes com os resultados obtidos pelo teste de emergência, porém, conduzido em areia. Carvalho et al. (2009), com experimentos com sementes de soja, corroboram com os resultados encontrados para trigo. A utilização da aferição da condutividade elétrica pelo método individual, indicou que sementes de girassol hidratadas por, aproximadamente, 18 horas apresentaram, também, resultados de acordo com os obtidos pelo teste de emergência em campo (ANFINRUD; SCHINEITER, 1984).

Pode-se, também, destacar a praticidade e a rapidez na obtenção dos resultados no presente estudo, até mesmo em comparação com a condutividade elétrica massal, em que o período mínimo de embebição necessário para detectar diferenças na qualidade das sementes de trigo foi de 8 horas. A metodologia de maneira individual adotada para o teste de condutividade elétrica foi mais eficiente quanto a sua rapidez de execução e obtenção de resultados em experimentos com sementes de café, em comparação ao método massal (COSTA; CARVALHO, 2006).

Dentre os fatores observados e considerados de suma importância na escolha de um teste de vigor é que este deve ser prático e eficiente, tanto em promover a estratificação dos lotes de sementes de forma proporcional à emergência em campo, quanto em relação ao tempo necessário para obtenção dos resultados (VIEIRA, 1994).

Estudos da condutividade elétrica individual para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de mamona, mostraram que a condutividade elétrica realizada da forma

individual é mais sensível do que a conduzida de maneira massal, apresentando um maior número de lotes estratificados pelo vigor através do teste (OLIVEIRA et al., 2009).

Os dados de correlação entre a condutividade elétrica individual e os demais testes de vigor: primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em campo e índice de velocidade de emergência (Tabela 12), apresentaram altas correlações negativas e significativas, mesmo na leitura a partir de 1 hora de embebição, comprovando que os dados obtidos através do teste de condutividade elétrica individual foram condizentes com os demais testes de vigor.

A correlação linear simples fornece o sentido e a magnitude da associação entre dois caracteres, desse modo, através do uso da correlação é possível averiguar se houve uma variação proporcional e inversa entre dois testes (BARBIERI, 2011).

Tabela 12 – Coeficientes de correlação de Pearson entre as médias de condutividade elétrica individual e as médias de primeira contagem de germinação (PC), germinação (G), envelhecimento acelerado (EA) e emergência a campo (EM) e índice de velocidade de emergência de dez lotes de sementes de trigo em diferentes tempos de embebição. Santa Maria, RS. 2013.

| | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 6h | 7h | 8h | 24h |
|-----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| PC | -0,896* | -0,920* | -0,846* | -0,882* | -0,791* | -0,778* | -0,915* | -0,880* | -0,932* |
| G | -0,837* | -0,868* | -0,794* | -0,823* | -0,565 | -0,518 | -0,569 | -0,588 | -0,761* |
| EA | -0,944* | -0,939* | -0,930* | -0,940* | -0,842* | -0,845* | -0,965* | -0,950* | -0,980* |
| EM | -0,932* | -0,928* | -0,835* | -0,886* | -0,705* | -0,710* | -0,899* | -0,886* | -0,957* |
| IVE | -0,898* | -0,883* | -0,876* | -0,890* | -0,836* | -0,829* | -0,953* | -0,939* | -0,906* |

* Significativo pelo teste t bilateral, em 5% de probabilidade de erro.

As correlações foram todas negativas, indicando que quanto maiores valores de condutividade elétrica menores serão os valores dos testes de germinação e vigor. Resultados encontrados por Haesbaert (2013) e por Barbieri (2011), em estudos com sementes de girassol e arroz (cultivar IRGA 424), respectivamente, corroboram os encontrados para trigo nesse trabalho, em relação ao teste de emergência em campo. Em estudos com sementes de soja, Barbieri et al. (2013) concluíram que entre todos os testes de vigor avaliados, a condutividade elétrica individual foi o que mais se correlacionou com a emergência em campo, mas, o teste de envelhecimento acelerado também apresentou valor de correlação elevado com o teste de condutividade elétrica individual. Para ser avaliado como eficiente, um teste de vigor deve proporcionar uma classificação dos lotes em diferentes níveis de vigor, de maneira

proporcional à da emergência das plântulas (MARCOS FILHO; NOVENBRE, 2009), fato que se confirmou através da utilização da condutividade elétrica individual.

Com relação ao resultado de correlação obtido entre a condutividade elétrica individual e o teste de germinação, embora tenham-se obtidos resultados negativos e significantes (até o quarto período de embebição e no último), os valores foram inferiores àqueles apresentados para os demais testes, confirmando o fato de que o teste de germinação não apresenta a mesma sensibilidade que os testes de vigor em ranquear lotes de sementes em diferentes níveis de qualidade. Souza (2007) afirma que a análise da correlação nem sempre é a mais adequada para atingir bons resultados, uma vez que, os testes que avaliam as permeabilidades das membranas, como os de condutividade elétrica individual e massal, podem não estabelecer uma boa correlação com os dados obtidos por meio do teste de germinação.

A tabela 13 apresenta os coeficientes de correlação de Pearson entre as condutividades elétricas massal e individual conforme o número de sementes utilizadas, o tempo e o volume de embebição das sementes.

Tabela 13 – Coeficientes de correlação de Pearson entre a condutividade elétrica massal e a condutividade elétrica individual em diferentes tempos de embebição de sementes de trigo, de diferentes combinações de volume de água e número de sementes. Santa Maria, RS. 2013.

| Número de sementes | | 25 Sementes | 50 Sementes | 75 Sementes |
|--------------------|-------|-------------|-------------|-------------|
| Volume | Tempo | | | |
| 25mL | 1H | 0,076 | 0,707* | 0,009 |
| | 2H | 0,126 | 0,594 | 0,293 |
| | 3h | 0,067 | 0,611 | 0,556 |
| | 4h | -0,668* | 0,751* | 0,501 |
| | 5H | 0,234 | 0,793* | 0,573 |
| | 6H | 0,679* | 0,852* | 0,648* |
| | 7H | 0,706* | 0,836* | 0,686* |
| | 8H | 0,853* | 0,876* | 0,970* |
| | 24H | 0,847* | 0,960* | 0,933* |
| 50mL | 1H | -0,112 | 0,299 | -0,279 |
| | 2H | 0,086 | -0,128 | 0,481 |
| | 3H | -0,197 | -0,244 | 0,659* |
| | 4H | -0,018 | -0,095 | 0,036 |
| | 5H | -0,879* | -0,408 | 0,619* |
| | 6H | 0,102 | -0,413 | 0,632* |
| | 7H | -0,199 | -0,108 | 0,713* |
| | 8H | 0,46 | -0,158 | 0,699* |
| | 24H | 0,465 | 0,155 | 0,735* |

| Número de sementes | | 25 Sementes | 50 Sementes | 75 Sementes |
|--------------------|-------|-------------|-------------|-------------|
| Volume | Tempo | | | |
| 75mL | 1H | -0,362 | 0,726* | 0,388 |
| | 2H | -0,364 | -0,174 | 0,055 |
| | 3H | -0,342 | -0,187 | 0,242 |
| | 4H | -0,211 | 0,247 | 0,416 |
| | 5H | -0,128 | 0,349 | -0,311 |
| | 6H | -0,596 | 0,670* | 0,432 |
| | 7H | -0,11 | 0,698* | 0,724* |
| | 8H | -0,438 | 0,522 | 0,711* |
| | 24H | 0,571 | 0,655* | 0,664* |

* Significativo pelo teste t bilateral, em 5% de probabilidade de erro.

Fixando-se o volume de embebição das sementes, observa-se que para 25mL sementes houve uma estabilização de uma correlação positiva e significativa entre as condutividades elétricas massal e individual, a partir das seis horas de embebição em qualquer número de sementes utilizado (25, 50 ou 75). Quando utilizou-se 50mL de solução de hidratação, essa estabilização de correlações positivas e significativas só ocorreu para amostras de 75 sementes em, praticamente, todos os períodos de embebição, com estabilização desses resultados, a partir da sexta leitura.

Correlações positivas entre duas variáveis indicam que quando uma aumenta ou diminui a outra também aumenta ou diminui, ou seja, são diretamente proporcionais. No caso dos resultados obtidos para as condutividades elétricas massal e individual, esses resultados são condizentes, pois, ambas as formas de condução do teste baseiam-se na deterioração das membranas celulares, ou seja, quanto maior a deterioração, maior o valor de condutividade elétrica, seja massal ou individual. Dessa forma, era esperado que houvesse correlações positivas e significativas.

As combinações de 75 sementes e 25mL de água deionizada nos períodos de 8 e 24 horas, apresentaram altos valores de correlação, o que corrobora com os dados obtidos entre as correlações da condutividade elétrica massal e os demais testes de vigor, indicando essa, como a melhor combinação para a condução desse teste em sementes de trigo.

Em estudos da condutividade elétrica individual e massal, em sementes de soja, foi obtida uma correlação positiva e significativa entre esses dois testes, corroborando os dados encontrados no presente trabalho (BARBIERI et al. 2013). Cabe ressaltar, que estudos correlacionando a eficiência dessas duas modalidades de condução do teste de condutividade elétrica são bastante incipientes.

1.5 Conclusões

O teste de condutividade elétrica massal foi eficiente para a separação dos lotes de sementes de trigo e a melhor combinação foi obtida com a utilização de 25mL de solução de embebição e amostras de 75 sementes, nos períodos de 8 e 24 horas.

O teste de condutividade elétrica individual foi eficiente para a determinação do vigor das sementes de trigo e a estratificação em categorias fisiológicas e, ainda, indica a possibilidade de leitura com período reduzido, até com 1 hora de embebição das sementes em solução.

1.6 Referências

ABRASEM. Associação Brasileira de Sementes e Mudanças. Anuário 2011 - Agricultura sem fronteiras, 2011. 86p.

AKHTER, F. N.; KABIR, G.; MANNAN, M. A.; SHAHEEN, N. N. Aging effect of wheat and barley seeds upon germination, mitotic index and chromosomal damage. **Journal of Islamic Academy of Sciences**, v. 5, n. 1, p. 44-48, 1992.

ALBUQUERQUE, A. D. **Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijão**. 2005. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2005.

ALBUQUERQUE, M. C. F.; CAMPOS, V. C.; MENDONÇA, E. A. F.; CALDEIRA, S. A. F.; BRUNCA, R. H. C. G. Testes de envelhecimento acelerado em sementes de arroz: influência da temperatura e do período de exposição. **Revista Agricultura Tropical**, Cuiabá, v. 1, p. 9-16, 1995.

ALVES, A. U.; DORNELAS, C. S. M.; BRUNO, R. L. A.; ANDRADE, L. A.; ALVES, E. U.; Superação da dormência em sementes de *Bauhinia divaricata* L. **Acta Botanica Brasílica**, v. 18, n. 4, p. 871-879, 2004.

ALVES, C. Z.; SÁ, M. E.; Avaliação do vigor de sementes de rúcula pelo teste de lixiviação de potássio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2 p. 108-116, 2010.

ALVES, C.Z.; SÁ, M.E. Teste de condutividade elétrica na avaliação do vigor de sementes de rúcula. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 203-215, 2009.

- ANDRADE, R. N. B.; SANTOS, D. S. B.; FILHO, B. G. S.; MELLO, V. D. C. Correlação entre testes de vigor em sementes de cenoura armazenadas por diferentes períodos. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 1, n. 2, p. 153-162, 1995.
- ANFINRUD, M. N.; SCHNEITER, A. A. Relationship of sunflower germination and vigor tests to field performance. **Crop Science**, v. 24, p. 341-344, 1984.
- ARTOLA, A.; CARRILLO-CASTAÑEDA, G. The bulk conductivity test for birdsfoot trefoil seed. **Seed Science and Technology**, v. 33, p. 231-236, 2005.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO TRIGO (ABITRIGO). **História do Trigo**. Disponível em: <[http://www.abtrigo.com.br/historia do trigo2a.asp](http://www.abtrigo.com.br/historia%20do%20trigo2a.asp).2005>. Acesso em: 07 jan. 2013.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS – AOSA. **Seed vigour testing handbook**. East Lansing: AOSA, 1993. 93p. (Contribution, 32).
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln: AOSA, 2002. 105p. Contribution, 32.
- ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; MARTORELLI, D. T.; ALBRECHT, L. P. Testes de laboratório em sementes de canola e a correlação com a emergência das plântulas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 7, n. 1, p. 62-70, 2005.
- BANERJEE, V. T., ROTHRO, K. R.; MITRA, S. Restriction map of the single-stranded DNA genome of Kilham rat virus strain 171, a nondefective parvovirus. **Journal of Virology**, n. 40, p. 118-125, 1981.
- BARBIERI, A. P. P. **Determinação do potencial fisiológico de sementes de arroz baseado na integridade das membranas celulares**. 2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria: 2011.
- BARBIERI, A. P. P., et al. Teste de condutividade elétrica individual em sementes de soja e a relação com emergência de plântulas a campo. **Interciência**, v. 38, n. 4, p. 310-315, 2013.
- BARROS, D. I.; NUNES, H. V.; DIAS, D. C. F. S.; BHERING, M. C. Comparação entre testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 4, n. 2, p. 12-16, 2002.
- BEDFORD, L. V. Conductivity tests in commercial and hand harvested seed of pea cultivars and their relation to field establishment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 2, n. 3, p. 323-335, 1974.
- BIAS, A. L. F. et al. Métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijão vigna. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 3, p. 651-660, 1999.

BRACCINI, A. L.; BRACCINI, M. C. L.; SCAPIM, C. A. Mecanismos de deterioração de sementes: Aspectos bioquímicos e fisiológicos. **Informativo ABRATES**. v. 11, n. 1, p. 10-15, 2001.

BRADFORD, K. J. Water relations in seed germination. Pages 351–396. in: J. Kigel and G. Galili, eds. **Seed Development and Germination**. New York, Marcel Dekker Inc. 1995.

BRAGA JUNIOR, J. M. **Maturação, qualidade fisiológica e testes de vigor em sementes de mamona**. 2009. 62 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Areia: 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399p.

CARDOSO, A. I. I. Produção e qualidade de sementes de abobrinha “Piramoita” em resposta à quantidade de pólen. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 1, p. 47-52, 2003.

CARDOSO, I. B. **Tratamento térmico de misturas de farinha de trigo e de quinoa e sua aplicação em bolo tipo pão de ló**. 2007. 136 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2007.

CARNEIRO, J. G. A.; AGUIAR, I. B. Armazenamento de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Coord.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília, DF: ABRATES, 1993. p. 333-350.

CARVALHO, de C. **Avaliação do parâmetro fisiológico em relação ao vigor das sementes de fumo**. 2009. 98 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba: 2009.

CARVALHO, L. F.; SEDIYAMA, C. S.; REIS, M. S.; DIAS, D. C. F. S.; MOREIRA, M. A. Influência da temperatura de embebição da semente de soja no teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 9-17, 2009.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.

CARVALHO, P. E. R. Araucaria angustifolia (Bertoloni) Otto Kuntze: Pinheiro-do-Paraná. In: CARVALHO, P. E. R. (Ed). **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA - CNPF / Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p. 70-78.

CASAROLI, D. **Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de abóbora variedade menina brasileira**. 2005. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria: 2005.

CONAB. **Acompanhamento de safra Brasileira: grãos**. Brasília, 2011. 40 p. (Publicação mensal). Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_10_11_14_19_05_boletim_outubro-2011.pdf. Acesso em: 15 jan 2013.

CONAB. **Acompanhamento de safra Brasileira: grãos**. Brasília, 2012. 37 p. (Publicação mensal). Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_04_11_15_04_18_boletim_abril_2012.pdf. Acesso em: 15 jan 2013.

COSTA, P. S. C.; CARVALHO, M. L. M. Teste de condutividade elétrica individual na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café. **Ciência Agrotécnica**, v. 30, n. 1, p. 92-96, 2006. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542006000100013&script=sci_arttext

COSTA, P. S. C.; CARVALHO, M. L. M. Teste de condutividade elétrica individual na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 92-96, jan./fev. 2006.

CUNHA, G. R. **Oficina sobre trigo no Brasil - Bases para construção de uma nova triticultura brasileira**. Embrapa. Passo Fundo, 2009. 32- 48p.

DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, v. 1, n. 2, 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**, v. 53, n. 1, p. 31-42, 1996. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-90161996000100005&script=sci_arttext

DUTRA, A. S.; VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de abobrinha. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p. 117-122, 2006.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2008.

FICK, G. L.; HIBBARD, R. P. A method for determining seed viability by electrical conductivity measurements. **Michigan Academy Science Arts and Letters**, Ann Arbor, v. 5, p. 95-103, 1925.

FONTES, B. P. D.; DAVIDE, L. C. ; DAVIDE, A. C. Fisiologia e citogenética de sementes envelhecidas de *Araucaria angustifolia*. **Ciências agrotecnicas**, Lavras, v. 25, n. 2, p. 346-355, 2001.

FRANCESCHI de, L. **Adaptabilidade, estabilidade, e efeito de variáveis meteorológicas sobre a qualidade tecnológica de cultivares de trigo no estado do Paraná**. 2009. 1032 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Tecnológica do Paraná, Pato Branco, 2009.

FRANCO, D. F.; PETRINI, J. A. **Testes de vigor em sementes de arroz**. Brasília. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2002. (Comunicado Técnico, 68).

FRANZIN, S. M. **Qualidade fisiológica de sementes de alface – Métodos para determinação e relação com a formação de mudas**. 2003. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria: 2003.

FRANZIN, S. M., et al. Avaliação do vigor de sementes de alface nuas e peletizadas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 118, maio/agos., 2004.

FRIGERI, T. **Interferência de patógenos nos resultados dos testes de vigor em sementes de feijoeiro**. 2007. 77f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007

GARCIA JÚNIOR, D. ***Fusarium graminearum em sementes de trigo (Triticum aestivum L.)***: detecção, efeitos e controle. 2006. 78 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia)–Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

GASPAR, C. M.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em função do número de sementes e da quantidade de água para sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 2, p. 82-89, 2002.

GRANT, W. F. The present status of higher plant bioassay for detection of environmental mutagens. **Mut. Res.**, Amsterdam, v. 310, n. 2, p. 175-185, 1994.

GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, A. R. Aspectos fisiológicos de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 232, p. 40-50, 2006.

GULLO, S. D. Cultura do trigo. **Boletim técnico**, n. 2, 2005. Disponível em: <www.fertioverde.com.br>. Acesso em: 15 jan 2013.

HAESBAERT, F. M. **Análise de vigor de sementes de girassol**. 2013. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria: 2013.

HAMMAN, B. H.; HALMAJAN, H.; EGLI, D. B. Single seed conductivity and seedling emergence in soybean. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 29, n. 3, p. 575-586, 2001.

HENNING, F. A., et al. Composição Química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 727-734, 2010.

HÖFS, A.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T.; BARROS, A. C. S. A. Emergência e crescimento de plântulas de arroz em resposta à qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 1, p. 92-97, 2004.

HUBNER, O. **Análise da conjuntura agropecuária safra 2007/08**. Estado do Paraná, Secretaria da Agricultura e do Abastecimento, Departamento de Economia Rural, abril, 2008. Disponível em: <http://www.seab.pr.gov.br/arquivos/file/deral/Prognosticos/trigo_2007_08.pdf>. Acesso em: 07 jan. 2013.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION – ISTA. **Handbook of the vigor test methods**. 3 ed. Zurich, 1995.117p.

IRIGON, D. L.; ROSSINI, M. C. Aferição de testes de vigor para sementes de trigo. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 2, n. 2, p. 7-16, 1992.

ISTA. International Seed Testing Association. International Rules for Testing Seeds, 2004. **Seed Science and Technology**, v. 32, n. 2, p. 403, 2006.

KIKUTI, A. L. P.; MARCOS FILHO, J. Potencial fisiológico de sementes de couve-flor e desempenho de plantas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 29, n. 1, p. 107-113, 2007.

LIMA, T. C. **Avaliação do potencial fisiológico de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 2005. 64 p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

LOPES, R. R.; FRANKE, L. B. Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de azevém (*Lolium multiflorum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 123-130, 2010.

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

MARCOS FILHO J., NOVEMBRE, A. D. L. C. (Avaliação do potencial fisiológico de sementes de hortaliças. In: NASCIMENTO, W. M. (Ed.) **Tecnologia de Sementes de Hortaliças**. Embrapa Hortaliças. Brasília, 2009. pp. 185-246.

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

MARCOS FILHO, J. Pesquisa sobre vigor de sementes de hortaliças. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 11, n. 3, p. 63-75, 2001.

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, 1999. p. 1-24.

MARCOS FILHO, J.; SILVA, W. R.; NOVEMBRE, A. D. C. L.; CHAMMA, H. M. C. P. Estudo comparativo de métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja,

com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, n. 12, p. 1805-1815, 1990.

MATTHEWS, S.; POWELL, A. A. Electrical conductivity test. In: PERRY, D. A., ed. **Handbook of vigor test methods**. Zürich: ISTA, 1981. p. 37-42.

MATTHEWS, S.; POWELL, A. A. Electrical conductivity vigour test: physiological basic and use. **ISTA News Bulletin**, Zurich, n. 131, p. 32-35, Abr. 2006.

MEDINA, P. F.; MARCOS FILHO, J. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Anais da ESALQ**, v. 47, n. 1, p. 47-70, 1990.

MENEZES, N. L.; GARCIA, D. C.; BAHRY, C. A.; MATTIONI, N. M. Teste de condutividade elétrica em aveia preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 138-142, 2007.

MENEZES, V. O. **Inoculação de *Fusarium moniliforme* (Sheld.) em sementes de duas cultivares de pepino através da técnica da restrição hídrica e sua influência sobre a qualidade fisiológica**. 2009. 85f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria: 2009.

MERTZ, L. M., et al. Condutividade elétrica individual para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de trigo. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 35-39, 2012.

MIGUEL, M. V. C.; MARCOS FILHO, J. Potassium leakage and maize seed physiological potential. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 315-319, 2002.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (mapa). Sementes e mudas. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/sementes-mudas>> Acesso em : 05 jan. 2013.

MODARRESI, R.; RUCKER, M.; TEKRONY, D. M. Accelerated ageing test for comparing wheat seed vigour. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 30, n. 3, p. 683-687, 2002.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. Domesticar o grão. **Ciência Hoje**, v. 17, p. 38-45, 1985.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C. et al. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-2.21.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação de plântulas. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.) **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

NATARAJAN, A. T. Chromosome aberrations: past, present and future review. **Mutation Research**. 504 3-16. 2002.

NOVEMBRE, A. D. L. C. et al. Teste de condutividade elétrica para estimar o potencial fisiológico de sementes de berinjela. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 20., 2002, Uberlândia. **Resumos...** Horticultura Brasileira, Brasília, v. 20, n. 2, supl. 1, 2002. Resumo 149.

NOVEMBRE, A. D. L. C.; CARPI, V. A. F.; MARCOS FILHO, J.; CHAMMA, H. M. C. P. Teste de condutividade elétrica para estimar o potencial fisiológico de sementes de berinjela. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 293, 2002.

OHLSON, O. C. et al. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 4, p. 118-124, 2010. Disponível em: <<http://homolog.scielo.br/pdf/rbs/v32n4/13.pdf>>. Acesso em: 5 abr. 2011. doi: 10.1590/S0101-31222010000400013.

OLIVEIRA de. J. A., et al. Teste de condutividade elétrica para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 60-67, 2009.

OLIVEIRA, de F. N., et al. Qualidade fisiológica de sementes de girassol avaliadas por condutividade elétrica. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 42, n. 3, p. 279-287, jul./set. 2012.

OLIVEIRA, S. R. S.; NOVEMBRE, A. D. L. C. Teste de condutividade elétrica para as sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 31-36, 2005.

PEDROSO, D. C. et al. Métodos de inoculação de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em sementes de salsa e sua influência na qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 79-85, 2010.

PENARIOL, A. L. **Efeito do teor de água de sementes de soja sobre os resultados do teste de condutividade elétrica**. 1997. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Tecnologia de sementes: Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação - do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 265-282.

PINHO, E. V. R. V.; SALGADO, K. C. P. C. Inovações tecnológicas na produção de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 232, p. 22-31, 2006.

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

PRETE, C. E. C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (*Coffea arabica* L.) e sua relação com a qualidade da bebida**. 1992. 125 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1992.

RODO, A. B; TILLMANN, M. A. A.; VILLELA, F. A. Testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, 20: 23-28. 1998.

ROSA, M. S. **Teste de condutividade elétrica para sementes de milho e de soja armazenadas sob baixa temperatura**. 2009. 57 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal: 2009.

ROSSETTO, C. A. V; BRAZ, M. R. S. Correlação entre testes para avaliação da qualidade de sementes de girassol e emergência das plântulas em campo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, p.2004-2009, 2009.

SÁ, M. E. Condutividade elétrica em sementes de tomate (*Lycopersicon lycopersicum* L.). **Scientia Agrícola**, v. 56, n. 1, p. 13-19, 1999.

SAKO, Y. et al. A system for automated vigour assessment. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 29, p. 625-636, 2001.

SALINAS, A. R.; YOLDJIAN, A. M.; CRAVIOTO, R. M.; BISARO, V. Pruebas de vigor y calidad fisiologica de semillas de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 2, p. 371-379, 2001. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2001000200022

SILVA, K. B.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; GONÇALVES, E. P.; BRAZ, M. S. S.; VIANA, J. S. Quebra de dormência em sementes de *Erythrina velutina* Willd. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 180-182, 2007.

SILVA, K. J. D. (2009) **Estatística da Produção de Feijão - Caupi**. www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=34241 (Cons. 24/02/2011).

SLEPER, D. A.; POEHLMAN, J. M. **Breeding field crops**. Ames: Blackwell Pub Iowa, 2006. 424 p.

SOUZA, L. A. **Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade de sementes de mamona**. 2007. 54 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras: 2007.

SOUZA, L. A.; CARVALHO, M. L. M.; KATAOKA, V. Y.; OLIVEIRA, J. A. Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 60-67, 2009.

SOUZA, M. A. A. Arcabouço regulatório do biodiesel: especificações. In: SEMINÁRIO SOBRE TECNOLOGIA DE COMBUSTÍVEIS LUBRIFICANTES DA UNIFACS. I., 2005, Salvador. **Anais eletrônicos...** Salvador: UNIFACS, 2005. Disponível [HTTP://www.energia.unifacs.com.br/eventos/recontec](http://www.energia.unifacs.com.br/eventos/recontec). Acesso em: 25 de jun. 2013.

STEERE, W. C.; LEVENGOOD, W. C.; BONDIE, J. M. An electronic analyser for evaluating seed germination and vigor. **Seed Science and Technology**, v. 9, n. 2, p. 567-576, 1981.

TEKRONY, D. M. Precision is an essential component in seed vigour testing. **Seed Science and Technology**, v. 31, n. 2, p. 435-447, 2003.

TOLEDO, F. F. de & MARCOS FILHO, J. M. **Manual das sementes - tecnologia da produção**. São Paulo: Ceres. 1977. 224p.

TORRES, S. B.; CASEIRO, R. F.; RODO, A. B.; MARCOS FILHO, J. Testes de vigor em sementes de maxixe (*Cucumis Anguria L.*) com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 480-483, 1998.

VANZOLINI, S.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em sementes de amendoim, efeitos de teor de água inicial e de período de embebição. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 1, p. 46-52, 1999.

VANZOLINI, S.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em sementes de amendoim, efeitos de teor de água inicial e de período de embebição. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 1, p. 46-52, 1999.

VASQUEZ, G. H. **Condicionamento fisiológico de sementes de soja: efeitos sobre a germinação, vigor e potencial de armazenamento**. 1995. 138p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba: 1995.

VÁZQUEZ, E.; MONTIEL, F.; VÁZQUEZ-RAMOS, J. M. DNA ligase activity in deteriorated maize embryo axes during germination: a model relating defects in DNA metabolism in seed to loss of germinability. **Seed Science Research**, v. 1, p. 269-273, 1991.

VIDAL, M. D. **Condutividade elétrica massal e individual para determinação do potencial fisiológico de sementes de milho**. 2010. 83 f. Tese (Doutorado em agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria: 2010.

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.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Eds.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999, p.1-26.

VIEIRA, R. D.; PENARIOL, A. L.; PERECIN, D.; PANOBIANCO, M. Condutividade elétrica e teor de água inicial das sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 1333-1338, 2002.

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. Physiological and biochemical tests for seed vigor. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 1, p. 127-157, 1973.

ZONTA, J. B., et al. Diferentes tipos de secagem: efeitos na qualidade fisiológica de sementes de pinhão manso. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n

1.7 Apêndices

APÊNDICE A – Quadrados médios da análise de variância do teste de envelhecimento acelerado (EA) para dez lotes de sementes de trigo. UFSM, Santa Maria, 2013.

| FV | GL | EA |
|---------|----|----------|
| Lote | 9 | 1075,12* |
| Resíduo | 30 | 6,67 |

* Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade de erro.

APÊNDICE B – Estatística do teste de Kruskal-Wallis para os testes de primeira contagem de germinação (PC), germinação (G), frio (TF) e teor de água para dez lotes de sementes de trigo. UFSM, Santa Maria, 2013.

| | PC | G | TF | TA |
|---------|---------|--------|---------|----------|
| Kcalc. | 35,73 | 26,95 | 31,27 | 34,82 |
| p-Valor | 0,00004 | 0,0014 | 0,00027 | 0,000064 |
| GL | 9 | 9 | 9 | 9 |
| CV (%) | 6,21 | 3,47 | 2,8 | 4,1 |
| Média | 75,6 | 93,45 | 91,85 | 12,05 |

APÊNDICE C – Estatística do teste de Friedman para os testes de emergência a campo (EM) e índice de velocidade de emergência (IVE) para dez lotes de sementes de trigo. UFSM, Santa Maria, 2013.

| | EM | IVE |
|----------------|---------|---------|
| X ² | 32,81 | 32,95 |
| p-Valor | 0,00014 | 0,00013 |
| GL | 9 | 9 |
| CV (%) | 5,68 | 18,6 |
| Média | 70,32 | 37,8 |

APÊNDICE D – Quadrados médios da análise de variância dos testes de massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca total de plântulas (MST), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CPR) e comprimento total de plântulas (CTO) para dez lotes de sementes de trigo de diferentes níveis de vigor. UFSM, Santa Maria, 2013.

| FV | GL | Quadrados Médios | | | | | |
|---------|----|------------------|----------|---------|---------|----------|----------|
| | | MSPA | MSR | MST | CPA | CPR | CTO |
| Lote | 9 | 0,0002* | 0,00055* | 0,0010* | 5,6454* | 11,5103* | 34,0911* |
| Resíduo | 30 | 0,00007 | 0,00008 | 0,0002 | 0,3595 | 0,6306 | 1,8994 |
| CV (%) | | 10,80 | 10,82 | 8,78 | 5,07 | 4,25 | 4,56 |
| Média | | 0,0775 | 0,086 | 0,1627 | 11,50 | 18,68 | 30,24 |

* Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade de erro.

APÊNDICE E – Quadrados médios da análise de variância do teste de condutividade elétrica massal após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas de embebição de 10 lotes de 25, 50 e 75 sementes de trigo em 25, 50 e 75 mL de volume de água.

| FV | Condutividade elétrica massal/ 25 sementes | | | | | | | | | |
|--------------------|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| | GL | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 6h | 7h | 8h | 24h |
| Lote (A) | 9 | 40,91* | 18,87* | 24,91* | 51,28* | 132,29* | 75,11* | 46,53* | 45,93* | 96,01* |
| Volume de água (D) | 2 | 1511,50* | 1029,70* | 1658,75* | 1322,50* | 3608,49* | 4634,52* | 7905,12* | 8621,85* | 12553,23* |
| A x D | 18 | 15,21 | 9,08 | 23,05* | 20,91 | 125,09* | 27,15* | 8,15 | 7,46 | 56,13* |
| Resíduo | 90 | 12,63 | 7,94 | 11,52 | 13,55 | 8,61 | 13,07 | 7,28 | 9,11 | 16,11 |
| CV | | 27,13 | 20,63 | 21,40 | 22,24 | 14,13 | 16,12 | 11,02 | 11,94 | 12,59 |
| Média | | 13,10 | 13,66 | 15,86 | 16,55 | 20,76 | 22,42 | 24,48 | 25,28 | 31,86 |
| FV | Condutividade elétrica massal/50 sementes | | | | | | | | | |
| | GL | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 6h | 7h | 8h | 24h |
| Lote (A) | 9 | 34,74* | 38,86* | 47,85* | 63,08* | 59,53* | 64,84* | 65,36* | 80,27* | 197,96* |
| Volume de água (D) | 2 | 2254,82* | 3143,73* | 3868,94* | 3764,56* | 4445,04* | 5566,81* | 6037,27* | 6595,11* | 2169,44* |
| A x D | 18 | 5,89* | 6,64* | 7,81* | 11,85* | 12,70* | 9,77* | 14,34* | 11,27* | 28,12* |
| Resíduo | 90 | 1,62 | 1,98 | 2,14 | 5,79 | 6,45 | 3,29 | 4,96 | 3,48 | 5,48 |
| CV | | 9,65 | 9,14 | 8,50 | 12,79 | 12,52 | 8,57 | 10,08 | 8,21 | 7,93 |
| Média | | 13,19 | 15,4 | 17,21 | 18,81 | 20,29 | 21,18 | 22,10 | 22,73 | 29,50 |
| FV | Condutividade elétrica massal/75 sementes | | | | | | | | | |
| | GL | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 6h | 7h | 8h | 24h |
| Lote (A) | 9 | 29,21* | 33,42* | 32,87* | 43,43* | 49,19* | 53,83* | 57,00* | 61,76* | 173,51* |
| Volume de água (D) | 2 | 2210,47* | 5651,09* | 4179,36* | 4517,04* | 5142,49* | 5778,98* | 6181,93* | 8660,63* | 11299,65* |
| A x D | 18 | 6,23* | 6,03* | 4,84* | 5,52 | 6,96 | 7,90* | 8,23* | 19,32* | 24,83* |
| Resíduo | 90 | 2,13 | 2,53 | 2,75 | 3,99 | 4,23 | 3,50 | 3,57 | 4,95 | 8,11 |
| CV | | 11,10 | 9,37 | 9,65 | 10,47 | 10,11 | 9,00 | 8,76 | 9,56 | 9,90 |
| Média | | 13,16 | 16,99 | 17,18 | 19,09 | 20,36 | 20,80 | 21,58 | 23,28 | 28,76 |

* Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade de erro.

APÊNDICE F – Quadrados médios da análise de variância do teste de condutividade elétrica individual após 1, 2, 3, 4, 5, 6,7, 8 e 24 horas de embebição para dez lotes de sementes de trigo. UFSM, Santa Maria, 2013.

| FV | Quadrados Médios | | | | | | | | | |
|---------|------------------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | GL | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 6h | 7h | 8h | 24h |
| Lote | 9 | 889,99* | 712,06* | 910,61* | 1159,53* | 3043,26* | 3565,52* | 5392,61* | 6937,01* | 6203,41* |
| Resíduo | 31 | 30,38 | 41,01 | 55,97 | 32,18 | 25,76 | 21,59 | 25,41 | 37,04 | 119,05 |
| CV (%) | | 52,34 | 50,23 | 42,7 | 34,85 | 27,78 | 22,86 | 21,62 | 23,08 | 21,18 |
| Média | | 3,1 | 3,56 | 4,15 | 5,39 | 7,21 | 8,47 | 9,47 | 10,45 | 13,14 |

* Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade de erro.

CAPÍTULO II

CITOGENÉTICA E VIGOR DE SEMENTES DE TRIGO SUBMETIDAS AO ENVELHECIMENTO ACELERADO

Resumo

O trigo é um dos mais importantes cereais produzidos no mundo, considerado como uma *commodity* agrícola, devido a sua importância econômica. Entre os fatores que podem afetar o rendimento da cultura está a qualidade das sementes utilizadas. Diante dessa constatação, originou-se a necessidade do desenvolvimento de testes de vigor, visando complementar e aumentar a eficiência da avaliação da qualidade fisiológica de sementes. O processo de deterioração das sementes e o vigor estão fisiologicamente interligados, a medida que a deterioração avança, o vigor, decresce. As perdas de vigor e da viabilidade das sementes devido ao processo de deterioração também estão associadas a alterações citogenéticas, resultando no comprometimento da integridade do material genético das sementes. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o ciclo celular e detectar alterações citogenéticas e fisiológicas que ocorrem durante o processo de deterioração das sementes de trigo submetidas ao envelhecimento artificial. Foram utilizadas sementes das cultivares Fundacep Campo Real e Ônix, submetidas ao processo de envelhecimento acelerado por zero, 24, 48, 72, 96 e 120 horas, à 42°C e 100% de umidade relativa, caracterizando os tratamentos aplicados as sementes. As seguintes determinações fisiológicas foram efetuadas: teste de germinação, teste de primeira contagem de germinação, condutividade elétrica massal, emergência a campo e índice de velocidade de emergência. As análises citogenéticas foram realizadas através de técnicas convencionais. Radículas de trigo de cada tratamento e cultivar foram fixadas em solução de etanol-ácido acético (3:1), as lâminas foram preparadas através da técnica do esmagamento e a coloração foi feita com orceína acética 2%. As lâminas foram observadas ao microscópio LEICA 40X e, foi realizada a contagem total de células em divisão, calculado-se o índice mitótico (IM) baseado na porcentagem de células em divisão (total de células em divisão/total de células analisadas x 100). Foram contadas 100 células por repetição, dividida em duas lâminas de 50 células, quatro repetições/tratamento, totalizando 400 células/ tratamento. Os resultados obtidos revelaram que a deterioração das sementes causada pelo envelhecimento acelerado tem relação direta com a diminuição do potencial germinativo e de vigor das sementes de trigo das cultivares Campo Real e Ônix; o estresse causado pelo envelhecimento acelerado nas sementes de trigo de ambas as cultivares leva a uma drástica redução no índice mitótico e, o envelhecimento acelerado aplicado às sementes de ambas cultivares leva a um aumento da frequência de anomalias cromossômicas, porém com respostas distintas para as cultivares analisadas e, possivelmente, vinculado a um efeito genotípico.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L.. Qualidade de sementes. Deterioração de sementes. Ciclo celular. Índice mitótico. Anomalias cromossômicas.

Abstract

Wheat is one of the most important grains produced in the world, considered as an agricultural *commodity*, due to its economical importance. Among the factors that may affect the income of the cultivation is the quality of the used seeds. Facing this finding, it has been originated the necessity of developing vigor tests, aiming to complement and increase the efficiency of the physiological evaluation quality of the seeds. The process of deterioration of the seed and the vigor are physiologically connected, as the deterioration advances, the vigor decreases. The vigor losses and viability of the seed due to the deterioration process are also associated to the cytogenetic alterations, resulting in the compromising of the integrity in the seed's genetic material. Thereby, this study aims to evaluate the cell cycle and detect cytogenetic and physiologic alterations that occur during the process of deterioration of the wheat seeds subordinated to artificial aging. It had been used seeds from the varieties *Fundacep Campo Real* and *Ônix*, subordinated to the process of accelerated aging by zero, 24, 48, 72, 96 and 120 hours, at 42°C and 100% of relative humidity, featuring the treatments applied to the seeds. The following physiological determinations were performed: germination tests, first germination counting test, mass electric conductivity, field emergency and emergency speed index. The cytogenetic analyses were performed through conventional techniques. Wheat radicles of each treatment and variety were fixed into a solution of acetic ethanol-acid (3:1), the sheets were prepared through the smashing technique and the coloration was made with acetic orcein 2%. The sheets were observed in the LIECA 40X microscope and the total count of dividing cells was done, calculating the mitotic index (MI) based on the percentage of dividing cells (total of dividing cells/total of analyzed cells x 100). 100 cells were counted per repetition, divided in two sheets of 50 cells, four repetitions/treatments, totalizing 400 cells/treatment. The obtained results reveal that the deterioration of the seeds caused by accelerated aging has a direct relation with the reduction of the germinative potential and the vigor of the wheat seeds from the varieties *Campo Real* and *Ônix*; the stress caused by the accelerated aging in the wheat seeds from both varieties leads to a drastic reduction in the mitotic index and, the accelerated aging applied to the seeds from both varieties leads to an increase of the chromosomal anomalies frequency, nevertheless with distinct answers for the varieties analyzed and, possibly, bound to a genotypic effect.

Key-words: *Triticum aestivum* L.. Seeds quality. Seeds deterioration. Cell cycle. Mitotic index. Chromosomal anomalies.

2.1 Introdução

2.1.1 Citogenética do trigo

Na família *Poaceae*, a tribo *Triticeae*, que engloba todas as espécies aparentadas do trigo e gêneros afins, se caracteriza por possuir número básico de cromossomos, $x=7$. No

entanto, o trigo cultivado (*Triticum aestivum* L.) é resultante de cruzamentos de outras três espécies diplóides (14 cromossomos). Assim, o trigo é $2n=6x=42$, sendo um alopoliplóide, com um comportamento meiótico semelhante ao diplóide (MONDIN; NETO; 2006, MORAES-FERNANDES, 1985).

Plantas alopoliplóides são oriundas de cruzamentos entre espécies diferentes e, como consequência, têm o seu número de cromossomos duplicados, pois os cromossomos dos diferentes parentais são considerados como uma entidade única, aumentando a ploidia, sendo que, cada cromossomo passa a ter mais de uma cópia, tornando-se pares, como um diplóide, por isso, também podem ser chamados de anfidiplóides (MONDIN; NETO, 2006).

O genoma (conjunto haplóide de cromossomos) dos trigos diplóides é designado A, assim, as espécies diplóides são AA. Praticamente, em quase todos os trigos tetraplóides há um outro conjunto de cromossomos, de outra espécie também diplóide, chamado de B. Dessa forma, os genomas dos trigos tetraplóides são ditos AABB. Os trigos hexaplóides, conseqüentemente, apresentam constituição genômica chamadas de AABBDD, devido a adição de outra espécie diplóide com genoma D (RILEY, 1960).

Apesar de, ao longo de anos, um grande número de espécies terem sido cultivadas, atualmente, o cultivo do trigo está restrito ao trigo duro, tetraplóide (*Triticum turgidum* L.) e ao trigo comum, hexaplóide (*Triticum aestivum* L.).

2.1.2 Importância da qualidade fisiológica de sementes

A cultura do trigo passou por grandes modificações no decorrer dos anos, principalmente, quanto ao seu rendimento. Essas modificações foram indispensáveis para obtenção de níveis adequados de produtividade, e para garantir que as exigências da indústria e do mercado fossem atendidas.

Essas modificações só foram possíveis, através de um esforço conjunto de programas de melhoramento genético e genótipos com excelentes características e adaptabilidade já são encontrados e disponibilizados (CARDOSO, 2007). Cabe ressaltar a importância que a qualidade fisiológica das sementes apresenta papel de fundamental importância nesse contexto, visto que é através das mesmas que as tecnologias incorporadas pelo melhoramento genético e pela biotecnologia chegam até o campo.

A qualidade fisiológica de sementes, para fins comercializáveis, de acordo com diversos autores (BARROS et al., 2002; FRANCO; PERINI, 2002; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000), é, rotineiramente, determinada pelo teste de germinação, o qual é conduzido sob condições ótimas de laboratório, desse modo, normalmente, superestimando os seus resultados, os quais, conseqüentemente, não condizem com a emergência e o comportamento das plântulas no campo, onde ocorrem condições, quase sempre, desfavoráveis. Além disso, é preciso considerar que a morte da semente ou perda da capacidade de germinar ocorre somente no processo final de deterioração. Sendo assim, a utilização de metodologias ou testes de vigor que permitem detectar o início do processo de deterioração das sementes, é mais eficiente para avaliar a qualidade fisiológica das mesmas.

Alguns testes de vigor apresentam princípios e metodologias aproximadas, como, por exemplo, submeter as sementes, antes de sua avaliação da qualidade fisiológica, a estresses por calor, frio ou umidade, visando simular as condições ambientais em campo, podendo ser bons indicadores de vigor para determinadas espécies, enquanto que, para outras não. Dessa forma, existe a necessidade da seleção de testes de vigor adequados a cada espécie, o que pode ser realizado através do estudo das relações ou correlações dos testes de vigor com a emergência de plântulas em campo (BOLIGON, 2010).

Segundo Fanan et al. (2006) e Rodo et al. (1998), para a cultura do trigo, os testes mais promissores para a determinação da qualidade e do vigor das sementes, são os testes de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica. Nesse presente estudo, ambos os testes foram promissores para classificarem as sementes de trigo em diferentes categorias fisiológicas (Capítulo I). Teixeira Filho et al. (2007), com o objetivo de estudar a temperatura e o período de exposição adequados para a avaliação das sementes de trigo da cultivar Aliança, pelo teste de envelhecimento acelerado, concluíram que temperatura de 41°C e tempos de exposição de 24 e 48 horas são adequados. Lima et al. (2006) concluíram, em sementes de trigo, que o teste de envelhecimento acelerado, à 43°C por 48 horas, foi eficiente para separar lotes conforme o seu vigor. O teste de condutividade elétrica, como teste de vigor, mostrou-se promissor para: amendoim (VANZOLINI; NAKAGAWA, 2005), soja (DIAS; MARCOS-FILHO, 1996), feijão caupi (DUTRA et al., 2006), feijão-de-vagem e quiabo (DIAS et al., 1998), abóbora (DUTRA; VIEIRA, 2006) e pimentão (OLIVEIRA; NOVENBRE, 2005).

Tanto o teste de envelhecimento acelerado, quanto o teste de condutividade elétrica estão baseados nos princípios de deterioração das membranas celulares das sementes.

2.1.3 Deterioração das sementes

Toda a semente sofre o processo natural de deterioração com o passar do tempo, mesmo que armazenada ou não, sendo que a deterioração pode ser mais rápida ou mais lenta, conforme as condições as quais as mesmas estão expostas e as características intrínsecas da semente. A deterioração das sementes consiste em um complexo de mudanças que prejudicam as suas funções vitais, culminando na redução do seu desempenho (DELOUCHE, 2002).

Os eventos que caracterizam o processo de deterioração numa sequencia hipotética seria: a degradação das membranas celulares, a redução das atividades respiratórias e biossintéticas, lentidão no processo de germinação, redução do potencial de conservação, decréscimo na taxa de crescimento e de desenvolvimento, queda na uniformidade da emergência, aumento da sensibilidade às condições adversas ambientais, redução da emergência de plântulas à campo, aumento da ocorrência de plântulas anormais e, finalmente, a perda da capacidade germinativa (DELOUCHE, 1969; DELOUCHE; BASKIN, 1973).

O processo de deterioração leva a perda gradativa de viabilidade e de vigor das sementes, resultando em menor capacidade das mesmas em dar origem a uma plântula normal. Isso ocorre através de uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, que ocorrem, tendo seu início logo após a maturidade fisiológica (máxima qualidade), em um ritmo variável, conforme a espécie e as condições (MARCOS FILHO, 2005).

Podem ser efeitos observados em sementes em deterioração: esgotamento de reservas das sementes, alterações da composição química das membranas celulares, como, por exemplo, quebra parcial das proteínas e oxidação lipídica, aumento da permeabilidade e desorganização estrutural com redução da integridade, alterações nos processos de reações enzimáticas e alterações nos nucleotídeos (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

A temperatura do ar e a umidade relativa são os principais fatores que influenciam na qualidade fisiológica da semente, especialmente quando se trata do vigor, durante o armazenamento ou em condições ambientes (TORRES, 2005). A temperatura influencia diretamente nos processos bioquímicos e no teor de água das sementes e a umidade relativa tem relação com o teor de água das sementes, além de ter controle sobre a ocorrência dos processos metabólicos que podem ocorrer (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Técnicas e metodologias que simulam a deterioração natural das sementes, como a deterioração controlada e o envelhecimento acelerado ou artificial, têm como princípio o fato

de que a taxa de deterioração das sementes aumenta progressivamente através da exposição a níveis adversos e extremos de temperatura e umidade relativa e, conseqüentemente, sementes mais vigorosas sofrerão menos com os efeitos nocivos, enquanto àquelas de menor vigor perderão sua viabilidade quase que totalmente (JIANHUA; McDONALD, 1996).

A técnica de envelhecimento acelerado, além de ser um teste de vigor de sementes, pode ser também utilizada como meio de avaliar a eficácia da conservação *ex situ* (CHASURISRI et al., 1993) e de estudar as mudanças bioquímicas que ocorrem durante os processos de deterioração das sementes (SELVA MEENA; SEN-MANDI, 1992; BASAVARAJAPPA et al., 1991).

Com o processo de envelhecimento artificial, a membrana citoplasmática sofre alterações na sua permeabilidade, e alguns componentes podem extravasar para o meio externo; além desse processo, pode ainda ocorrer desnaturação de biomoléculas (BASAVARAJAPPA et al., 1991). O processo de deterioração pode envolver também o material genético, causando quebras no DNA, redução na capacidade de síntese proteica (GHOSH, et al., 1981), danos no metabolismo de DNA (ROBERTS, 1973; CHEACH; OSBORN, 1978; McGEE, 1983; COELLO; VÁZQUEZ-RAMOS, 1996), além de danos cromossômicos e alterações do índice mitótico e meiótico (ABDALLA; ROBERTS, 1968, 1969; ROBERTS, 1973; VILLIERS, 1974; MURATA, et al., 1981).

2.1.4 Análises citogenéticas

Inúmeras espécies de importância econômica já tiveram seu cariótipo estudado através das técnicas da citogenética, incluindo características como: o número cromossômico da espécie, tamanho, morfologia, comportamento mitótico e meiótico (STUESSY, 1990; MORAES-FERNANDES, 1985). O número cromossômico consiste no parâmetro mais estudado e sobre o qual se tem maior número de informações.

O conhecimento citogenético da tribo *Triticeae* existe há muitos anos, pois seu número cromossômico, relativamente, baixo ($2n=42$), seus cromossomos grandes e a facilidade de obtenção de boas preparações mitóticas ou meióticas, propiciaram esse estudo (HESLOP-HARRISON, 1993).

Dessa forma, avanços nessa área permitiram também um progresso no melhoramento genético de plantas, pois, essa correlação permitiu maior controle nos cruzamentos e, como

consequência, os melhoristas passaram a alterar o nível de ploidia, testar combinações entre citoplasmas e genomas, transferir citoplasmas e induzir trocas entre cromossomos que não pareiam (CAUDERÓN, 1986). Segundo estudos realizados por Moraes-Fernandes (1985), os métodos de manipulação, relacionados à citogenética, permitem a transferência de características agronomicamente úteis, como a resistência as doenças fúngicas e pragas de espécies afins para cultivares adaptadas.

O desenvolvimento de técnicas citogenéticas, convencionais ou moleculares, cresceu substancialmente e pode acrescentar conhecimentos, também, na fisiologia e na tecnologia de sementes, de forma a auxiliar na compreensão dos mecanismos envolvidos no processo de deterioração de sementes. A técnica do envelhecimento acelerado de sementes associada a estudos de citogenética, surge como uma alternativa para avaliar, em nível celular, os danos causados pelo processo de deterioração das sementes.

As perdas de vigor e da viabilidade das sementes devido ao processo de deterioração, pelo envelhecimento acelerado, estão associadas às alterações como: perdas da integridade das membranas celulares, redução do metabolismo energético da célula, deficiência na síntese proteica, degradação dos ácidos nucleicos, aberrações cromossômicas, mutações gênicas e alterações no ciclo celular (VAZQUEZ-RAMOS et al., 1988; McDONALD, 1999; CORBINEAU et al., 2002; KIBINZA et al., 2006).

A aplicação da metodologia do envelhecimento acelerado em sementes de araucária demonstrou que anomalias encontradas, tais como: micronúcleos, núcleos fragmentados e pontes e fragmentos nas anáfases e telófases, demonstraram que a perda de vigor e de viabilidade das sementes de araucária envelhecidas devem-se a quebras nas moléculas de DNA (DAVIDE et al. 2001). Akhter et al. (1992) estudaram o efeito do envelhecimento acelerado em sementes de trigo e cevada, sobre a germinação, índice mitótico e danos cromossômicos e, concluíram que para ambas as espécies avaliadas, o índice mitótico diminuiu, a frequência de aberrações cromossômicas aumentou e este foi correlacionado com a perda da capacidade germinativa.

Dessa forma, este trabalho tem como objetivo avaliar o ciclo celular e detectar alterações citogenéticas e fisiológicas e o índice de proliferação celular que ocorrem durante o processo de deterioração das sementes de trigo das cultivares Fundacep Campo Real e Ônix submetidas ao envelhecimento artificial.

2.2 Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Didático e de Pesquisa em Sementes e no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade, da Universidade Federal de Santa Maria.

Foram utilizadas sementes de trigo pertencentes às cultivares Fundacep Campo Real e Ônix, adquiridas na empresa Imex Sul Insumos Agrícolas Ltda, produzidas no município de Santa Maria, RS, e armazenadas durante o período de realização do experimento, sem aditivo químico.

Posteriormente, cada uma dessas cultivares foi submetida ao processo de envelhecimento controlado conforme metodologia descrita a seguir.

2.2.1 Envelhecimento acelerado

Sobre os lotes de sementes de duas cultivares de trigo foi aplicada a metodologia do envelhecimento acelerado, por diferentes períodos de tempo, a fim de acompanhar as alterações fisiológicas e citogenéticas ao longo do processo de deterioração das sementes. Para isso, as sementes foram submetidas ao método do *gerbox*, ajustado para formar uma câmara úmida (100% de umidade), adaptando da metodologia proposta por Marcos Filho (1999). Foram utilizadas caixas plásticas tipo *gerbox* (11 x 11 x 3cm) como minicâmaras, onde foram adicionados ao seu interior 40mL de água destilada, além de telas de arame suspensas e ajustadas, onde foram colocadas, uniformemente, 5 gramas de sementes de cada cultivar para cada tratamento. Posteriormente, as caixas foram tampadas e mantidas em câmaras incubadoras tipo BOD, reguladas nas temperaturas de 42°C por: 24, 48, 72, 96 e 120 horas, e depois armazenadas até a condução dos testes fisiológicos e citogenéticos. Dessa forma, para cada cultivar, obteve-se:

Tratamento 1: testemunha, ou seja, sementes não submetidas ao envelhecimento acelerado (T1);

Tratamento 2: sementes submetidas ao envelhecimento acelerado por um período de 24 horas (T2);

- Tratamento 3: sementes submetidas ao envelhecimento acelerado por um período de 48 horas (T3);
- Tratamento 4: sementes submetidas ao envelhecimento acelerado por um período de 72 horas (T4);
- Tratamento 5: sementes submetidas ao envelhecimento acelerado por um período de 96 horas (T5);
- Tratamento 6: sementes submetidas ao envelhecimento acelerado por um período de 120 horas (T6).

2.2.2 Caracterização da qualidade fisiológica das sementes

Efetuuou-se a caracterização inicial dos lotes de sementes de trigo através dos seguintes testes:

Teste de germinação: foi realizado para cada cultivar, dentro de cada tratamento, utilizando-se quatro repetições de 100 sementes, semeadas em rolos de papel umedecidos com 2,5 vezes a massa do papel seco em água destilada, acondicionados em sacos plásticos para a manutenção da umidade e, mantidos em germinador regulado à 20°C. As avaliações foram realizadas aos quatro e aos sete dias após início do teste, conforme as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009), sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Primeira contagem de germinação: foi realizada conjuntamente com o teste de germinação, computando-se as porcentagens médias de plântulas normais, após quatro dias da instalação do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Condutividade elétrica massal: foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes de trigo para cada cultivar, dentro de cada tratamento, em um volume de água de imersão de 25mL, por período de imersão de 24 horas. Foram utilizadas sementes fisicamente puras, cuja massa foi pré determinada com utilização de balança de precisão de três casas decimais (0,001g), imersas em água destilada e deionizada, em copos plásticos (200mL) e mantidas em câmara tipo BOD, sob a temperatura constante de 20°C. Transcorrido o tempo de imersão, as amostras foram submetidas a agitação, com o auxílio de bastão de vidro e, a leitura da condutividade elétrica da solução foi realizada através da utilização de condutímetro marca

Bel, modelo W12D. Este equipamento foi ligado sempre 30 minutos antes das leituras e foi calibrado com solução padrão de KCl, na qual o aparelho deve marcar $1273 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, à 20°C . Como a água destilada e deionizada pode apresentar uma condutividade elétrica de $1-3 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, a leitura dos padrões pode ser levemente acima do valor mencionado (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999). Os dados foram expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de sementes, da seguinte maneira:

$$\text{CE} = \text{L}/\text{m}$$

Em que:

CE: condutividade elétrica massal, expressa em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$.

L: leitura da condutividade elétrica da solução de hidratação de sementes, em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

m: massa das sementes colocadas para embeber na solução de hidratação, expressa em gramas.

Após, cada leitura o eletrodo foi seco com papel toalha a fim de se evitar a condução de resíduos de uma amostra para a outra.

Emergência das plântulas em campo: foi conduzido com quatro blocos de 100 sementes para cada lote, dentro de cada tratamento, semeadas em linhas de 2,0m de comprimento com espaçamento de 0,20m e profundidade média de 0,03m. A avaliação da porcentagem de emergência das plântulas foi efetuada aos quatorze dias após a semeadura, quando não foi mais observada a emergência de novas plântulas, determinando-se a porcentagem de plântulas normais emergidas segundo os procedimentos descritos por Nakagawa (1999).

Índice de velocidade de emergência (IVE): foi conduzido conjuntamente com o teste de emergência de plântulas em campo, por meio da contagem diária do número de plântulas emergidas (comprimentos de plântula de 1 cm acima do substrato) até a estabilização. Para cada repetição, dentro de cada cultivar e tratamento, foi calculado o IVE, somando-se o número de plântulas emergidas diariamente, dividido pelo número de dias transcorridos, a partir da semeadura, empregando-se a fórmula proposta por Maguire (1962):

$$\text{IVE} = E_1/N_1 + E_2/N_2 + \dots + E_n/N_n,$$

em que:

E_1, E_2, E_n é o número de plântulas emergidas computadas nas contagens;

N_1, N_2, N_n é o número de dias da semeadura da 1ª, 2ª até a última avaliação.

Após a caracterização da qualidade fisiológica das sementes dos lotes de sementes, procederam-se os testes citogenéticos.

2.2.3 Análises citogenéticas

Sementes de trigo de cada cultivar (Fundacep Campo Real e Ônix) em cada tratamento (T1 a T6), foram colocadas para germinar conforme a metodologia do teste de germinação (BRASIL, 2009), no entanto, foram retiradas do germinador, assim que suas radículas atingiram 1cm de comprimento, isso ocorreu após 48 horas para os tratamentos T1 e T2, após 72 horas para os tratamentos T3 e T4 e, após 96 horas para os tratamentos T5 e T6, independente da cultivar.

Em seguida, as radículas de trigo de cada tratamento e cultivar foram coletadas e colocadas em fixador 3:1 (etanol:ácido acético), por um período de 24 horas em temperatura ambiente, após colocadas em álcool 70% e armazenadas em refrigerador até o preparo das lâminas. As células meristemáticas das radículas foram utilizadas para avaliar as alterações morfológicas e estruturais celulares e para determinar os índices mitóticos.

As radículas foram hidrolisadas em HCl 1N em estufa à 60°C por 10 minutos, após foram lavadas em água destilada e as lâminas preparadas pelo método de esmagamento e coradas com orceína acética 2% (adaptada de GUERRA; SOUZA, 2002). As lâminas foram observadas ao microscópio LEICA 40X, e analisadas. Foi realizada a contagem total de células em divisão, calculado o índice mitótico (IM), baseando-se na porcentagem de células em divisão ((total de células em divisão/total de células analisadas) x 100). Foram contadas 100 células por repetição, dividida em duas lâminas de 50 células, 4 repetições/tratamento, totalizando 400 células/ tratamento.

2.2.4 Análise estatística

Foram testados os pressupostos de normalidade dos erros pelo teste de Anderson-Darling e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett, em nível 5% de probabilidade de erro. Quando houve atendimento aos pressupostos da análise de variância,

utilizou-se o teste de Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade de erro, utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2008).

No laboratório, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Para os testes de emergência em campo e índice de velocidade de emergência, foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições.

De modo a atender as pressuposições da análise de variância, os resultados obtidos em porcentagem foram transformados através de arcsen raiz de $x/100$, em que x representa a porcentagem de plântulas normais obtidas pelos testes.

Para os dados referentes às análises citogenéticas, a comparação de frequências relativas dos valores dos índices mitóticos e entre os valores das alterações cromossômicas, foi feita através do teste Qui-quadrado (χ^2), com o auxílio do programa Bioestat 5.0 (AYRES, 2007).

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Caracterização fisiológica das sementes

As médias obtidas para os testes de germinação e de vigor (primeira contagem de germinação, emergência em campo, índice de velocidade de emergência e condutividade elétrica massal), aplicados para as duas cultivares de sementes de trigo estão apresentados na Tabela 1. Pela análise de variância (Apêndice A), o efeito dos tratamentos foi significativo para os testes de primeira contagem de germinação, de germinação e condutividade elétrica massal para as duas cultivares de sementes de trigo.

Tabela 1 – Determinação dos valores obtidos para as variáveis: primeira contagem de germinação (PC-%), germinação (G-%), emergência a campo (EC-%), índice de velocidade de emergência (IVE-%) e condutividade elétrica massal (CEM- $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) para sementes de trigo das cultivares Ônix e Fundacep Campo Real submetidas a seis tratamentos. UFSM, Santa Maria, 2013.

| Cultivar Tratamento ¹ | Ônix | | Fundacep Campo Real | | Ônix | | Fundacep Campo Real | | Ônix | Fundacep Campo Real |
|-------------------------------------|----------|---------|---------------------|---------|---------|---------|---------------------|---------|----------|---------------------|
| | PC | G | PC | G | EC | IVE | EC | IVE | CEM | CEM |
| 1 | 97,00 a* | 98,00 a | 83,00 a | 96,00 a | 82,00 a | 46,00 a | 72,00 a | 37,00 a | 61,72 a | 66,96 a |
| 2 | 98,00 a | 99,00 a | 76,00 b | 92,00 b | 71,00 b | 30,00 b | 70,00 a | 34,00 a | 59,44 a | 70,79 a |
| 3 | 95,00 a | 97,00 a | 66,00 c | 94,00 b | 68,00 b | 30,00 b | 60,00 b | 34,00 a | 56,40 a | 73,44 a |
| 4 | 73,00 b | 80,00 b | 76,00 b | 93,00 b | 56,00 c | 25,00 b | 41,00 c | 24,00 b | 66,80 a | 100,34 a |
| 5 | 58,00 c | 65,00 c | 42,00 d | 60,00 c | 38,00 d | 17,00 c | 32,00 d | 19,00 b | 86,58 b | 121,32 b |
| 6 | 49,00 d | 62,00 c | 21,00 e | 57,00 c | 31,00 d | 13,00 c | 21,00 e | 9,00 c | 110,97 b | 152,18 b |
| CV (%) | 3,15 | 2,87 | 7,53 | 4,72 | 13,18 | 22,03 | 8,68 | 18,66 | 26,7 | 24,91 |
| Média | 78,58 | 84,01 | 61,12 | 82,21 | 58,01 | 27,48 | 49,87 | 26,76 | 73,65 | 97,51 |

*Médias não seguidas pela mesma letra na coluna diferem pelo teste Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

¹T1: Testemunha (sementes não submetidas ao envelhecimento acelerado); T2: envelhecimento acelerado por 24 horas à 42°C; T3: envelhecimento acelerado por 48 horas à 42°C; T4: envelhecimento acelerado por 72 horas à 42°C; T5: envelhecimento acelerado por 96 horas à 42°C; T6: envelhecimento acelerado por 120 horas à 42°C.

Para a cultivar Ônix, no teste de primeira contagem de germinação, T2 e T3 não diferiram da testemunha e nem entre si e, diferiram de T4, T5 e T6, os quais diferiram entre si. O tratamento 6, submetido a 120 horas de envelhecimento acelerado, apresentou queda de 36,54% de germinação em relação à testemunha, mostrando que as sementes submetidas a esse nível de estresse apresentam deterioração e, conseqüentemente, queda de viabilidade. Para o teste de germinação, a tendência dos resultados obtidos na primeira contagem de germinação se manteve, ou seja, conforme aumentou o tempo de exposição das sementes às condições de estresse do envelhecimento artificial, maior foi a deterioração das mesmas e, menor a porcentagem de germinação, porém T5 e T6 não diferiram entre si.

Os resultados do teste de primeira contagem de germinação, para a cultivar Campo Real (Tabela 1), mostraram uma maior sensibilidade desta aos tratamentos, sendo que apenas T2 não diferiu de T4, mas diferiram de T1 e dos outros tratamentos. O tratamento T6, também, apresentou a menor porcentagem de germinação. O teste de germinação mostrou-se menos sensível aos tratamentos, mantendo altas porcentagens de germinação até ser aplicado o tratamento 5, excluindo este. Quedas expressivas na porcentagem de germinação devido aos tratamentos mais severos (T5 e T6) com envelhecimento artificial, indicam que as sementes não apresentam mais capacidade de reparação de danos causados pela exposição a alta temperatura e umidade, pois a perda da capacidade de germinação é o efeito final do processo de deterioração (BINOTTI, et al., 2008).

O envelhecimento das sementes leva a um atraso no processo germinativo, menor crescimento do embrião e aumento de vulnerabilidade a estresses ambientais, podendo acarretar na perda total de viabilidade (MAIA et al., 2007). Porém, sementes com maior vigor mantêm sua capacidade de apresentarem alta germinação, mesmo após serem submetidas a tratamentos de envelhecimento acelerado, enquanto as de baixo vigor demonstram redução de viabilidade (MARCOSFILHO, 1994; VIEIRA; CARVALHO, 1994).

Assim, pela sua facilidade de aplicação e interpretação, o efeito do envelhecimento artificial vem sendo amplamente utilizado para estudar o processo de deterioração e o vigor de diversas espécies como: feijão (BINOTTI et al., 2008), milho (SANTOS et al., 2002), canola (ÁVILA et al., 2005) e trigo (MAIA et al., 2007).

Os resultados relativos à condutividade elétrica massal indicam que até a aplicação do tratamento 4 (72 horas de envelhecimento acelerado) não houve diferença estatística entre a testemunha (T1) e, T2, T3 e T4. Os tratamentos 5 e 6, diferiram dos demais, porém, não entre si, para ambas as cultivares estudadas.

Pela análise de variância (Apêndice B), o efeito dos tratamentos foi significativo para os testes emergência em campo e índice de velocidade de emergência para as duas cultivares de sementes de trigo.

Na Tabela 1, pode-se visualizar que para a cultivar Ônix, no teste de emergência em campo, todos os tratamentos diferiram da testemunha, mas, T2 não diferiu de T3, T5 e T6, que também não diferiram entre si e T4 diferiu de todos os outros. Para o teste de índice de velocidade de emergência, ainda, todos os tratamentos diferiram da testemunha, porém T2, T3 e T4 não diferiram entre si, enquanto T5 e T6, também não. Observa-se que a medida que o nível de estresse causado por cada tratamento se intensifica, maior é o nível de deterioração das sementes.

Para a cultivar Campo Real, os resultados obtidos para o teste de emergência em campo e para o índice de velocidade de emergência, foram os mesmos para cada tratamento aplicado às sementes de trigo. Sendo que T2 e T3 não se diferenciaram da testemunha, T4 e T5 diferiram da testemunha, mas, não entre si e, T6 diferiu de todos, com valor de 21,5% para o teste de emergência em campo e de 9,90% para o índice de velocidade de emergência. Esse valores representam quedas de 29,65 e 26,20%, respectivamente, para os testes de emergência em campo e índice de velocidade de emergência, em relação aos respectivos valores obtidos por seus tratamentos testemunhas (72,5 e 37,78%). Ratifica-se, portanto, os resultados encontrados para a cultivar Ônix, em que a degradação das sementes aumentou, conforme o nível de estresse causado pelo tratamento, também, aumentou.

Em um estudo realizado com diversas espécies olerícolas, submetidas a efeitos de tratamentos com envelhecimento acelerado das sementes, houve severa redução do desempenho de sementes de alface e couve-flor, para os testes de germinação, emergência em campo e índice de velocidade de emergência, principalmente com o tempo de exposição às condições adversas de 72 horas (BARBOSA et al., 2011). Braccini et al. (1999) concluíram que o aumento dos períodos de envelhecimento acelerado afeta o desempenho das sementes, mostrado por testes como o emergência em campo e índice de velocidade de emergência.

Ressalta-se que fatores externos, como temperatura e umidade (fatores ambientais) e fatores internos (mudanças fisiológicas/proteicas) decorrentes do tempo de envelhecimento, além dos fatores genéticos, provavelmente causam mudanças nos compostos endógenos ou de seus níveis, o que levaria a ocorrência de uma mutação (RIBEIRO et al., 2010). Além disso, é fato que o mecanismo da deterioração das sementes está provavelmente envolvido, em algum nível, com o rompimento do ciclo normal de replicação do DNA, o que, conseqüentemente, afeta a divisão celular e posteriormente a viabilidade de suas células filhas (ROOS, 1988).

2.3.2 Análises citogenéticas

Os resultados obtidos para análise do ciclo celular de duas cultivares de trigo utilizadas nesse estudo, submetidas ao efeito diferentes tratamentos com envelhecimento acelerado estão apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4.

Na Tabela 2, estão apresentados o número de células meristemáticas das pontas de raízes das cultivares de trigo Campo Real e Ônix, durante o ciclo celular, considerando interfase e a divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase), regulares e irregulares. As células em interfase para a cultivar Campo Real variaram de 312 a 385 e para Ônix de 351 a 388, considerando os distintos tratamentos aplicados em um total de 400 células avaliadas por tratamento.

Tabela 2 – Número de células meristemáticas de trigo, em diferentes fases do ciclo celular, submetidas a efeitos de tratamento por envelhecimento acelerado em 400 células avaliadas por tratamento. UFSM, Santa Maria, 2013.

| Tratamento | Interfase | | Prófase | | Metáfase | | Anáfase | | Telófase | |
|---------------------|-----------|------|---------|----|----------|----|---------|----|----------|----|
| | RE* | IR** | RE | IR | RE | IR | RE | IR | RE | IR |
| Cultivar Campo Real | | | | | | | | | | |
| T1 ¹ | 311 | 1 | 25 | 1 | 29 | 1 | 10 | 5 | 16 | 1 |
| T2 | 338 | - | 23 | - | 13 | - | 10 | 2 | 14 | - |
| T3 | 346 | 1 | 11 | - | 16 | 1 | 9 | 1 | 15 | - |
| T4 | 352 | 12 | 13 | 3 | 6 | 1 | 1 | - | 11 | 1 |
| T5 | 364 | 3 | 13 | 1 | 5 | - | 1 | - | 7 | - |
| T6 | 384 | 1 | 4 | 1 | 3 | - | 1 | - | 6 | - |
| Cultivar Ônix | | | | | | | | | | |
| T1 | 351 | - | 14 | - | 20 | - | 7 | 1 | 7 | - |
| T2 | 345 | 4 | 18 | - | 18 | - | 4 | 1 | 10 | - |
| T3 | 360 | 1 | 23 | 1 | 5 | - | 4 | 1 | 6 | - |
| T4 | 368 | 1 | 11 | 1 | 11 | - | 3 | - | 5 | - |
| T5 | 383 | - | 1 | 1 | 2 | 2 | 6 | 2 | 3 | - |
| T6 | 388 | - | 6 | - | - | - | 1 | 1 | 3 | 1 |

*RE:regular;** IR: irregular

¹T1: Testemunha (sementes não submetidas ao envelhecimento acelerado); T2: envelhecimento acelerado por 24 horas à 42°C; T3: envelhecimento acelerado por 48 horas à 42°C; T4: envelhecimento acelerado por 72 horas à 42°C; T5: envelhecimento acelerado por 96 horas à 42°C; T6: envelhecimento acelerado por 120 horas à 42°C.

Houve uma diminuição no número de células em anáfase para a cultivar Campo Real nos tratamentos T4, T5 e T6, sendo que o mesmo ocorreu para as células em telófase dessa

mesma cultivar. Na cultivar Ônix, observou-se que houve uma diminuição de células em divisão apenas para telófase, também nos tratamentos T4, T5 e T6. Observa-se, ainda, que não foram observadas células em metáfase para o T6 na cultivar Ônix e o número de anáfases e telófases foi bem reduzido. Esses dados sugerem que o aumento do estresse causado pelos tratamentos aplicados às sementes, a partir do T4 (72, 96 e 120 horas de exposição a temperatura e umidade relativa elevadas) levaram a diminuição nas divisões celulares das células meristemáticas e a estagnação em determinadas fases do ciclo celular.

Através dos dados referentes a irregularidades encontradas no ciclo celular, pode-se fazer uma comparação com os dados obtidos pela análise fisiológica das sementes, ou seja, pelos testes de primeira contagem de germinação, germinação, condutividade elétrica, emergência em campo e índice de velocidade de emergência. Através de uma análise conjunta dos dados obtidos por esses testes, pode-se inferir que os tratamentos com maior tempo de exposição a alta temperatura e umidade relativa, foram os que obtiveram pior desempenho fisiológico, fato que condiz com as análises citogenéticas para ambas as cultivares. Ou seja, comparando-se os dados de anomalias celulares com os fisiológicos, verifica-se uma relação entre a diminuição destes com o aumento na frequência de células anormais, principalmente, para Ônix. Esses resultados vão ao encontro aqueles encontrados por Murata et al. (1981), em estudos relativos a alterações genéticas através do envelhecimento de sementes de cevada que, mostraram um aumento na frequência de anáfases aberrantes com o aumento do tempo em condições de envelhecimento artificial e, tais aberrações foram relacionadas com a perda da capacidade germinativa das sementes de cevada. A diminuição da germinação pode estar associada a um nível crítico de anomalias citogenéticas, tornando as sementes incapazes de germinar. Ainda, em sementes de girassol, o armazenamento destas, à 45° C e 100% de umidade relativa, resulta em uma redução progressiva da germinação e induz o crescimento anormal das plântulas, podendo levar até à morte (CORBINEAU et al., 1988; GAY et al., 1991). El-Maarouf-Bouteauet et al. (2011) relatam que a perda de viabilidade das sementes de girassol ocorre durante o envelhecimento à temperatura constante de 35°C, como já havia sido, previamente, descrito com sementes das mesmas espécies (BAILLY et al., 1996; KIBINZA et al., 2006).

Na Tabela 3 estão o número total de células analisadas, o número observado de células em interfase e em divisão celular, bem como os valores dos índices mitóticos (IM).

Para a cultivar Campo Real, os valores dos índices mitóticos variaram de 4% à 22% (para T6 e T1, respectivamente), sendo que os mesmos são decrescentes, conforme a intensidade do tratamento, demonstrando que houve inibição da divisão celular em relação à

testemunha, ou seja, o estresse causado pelo envelhecimento precoce nas sementes de trigo, refletiu no número de divisões celulares nos tecidos meristemáticos das radículas das plântulas de trigo. O controle diferiu significativamente entre todos os tratamentos e os demais tratamentos, também diferiram entre si, em que os valores para χ^2 foram: T1xT2= 5,547; T1xT3= 0,823; T1xT4 = 7,861; T1xT5= 15,487; T1xT6 = 31,744; T2xT3 = 10,547; T2xT4 = 25,806; T2xT5= 37,789; T2xT6 =59,383; T3xT4 =3,654; T3xT5 = 9,389; T3xT6 = 23,208; T4xT5 = 1,396; T4xT6 = 9,236; T5xT6 = 3,619.

A cultivar Ônix apresentou uma variação de 3% a 12,75% (T6 e T1, respectivamente) para os valores dos índices mitóticos (Tabela 3). Não houve diferença significativa entre a testemunha T1 (12,25%) e o T2 (12,75%), com valor do $\chi^2 = 0,046$. Os demais tratamentos diferiram entre si e da testemunha, conforme segue os valores do $\chi^2 = 1,024$ (T1xT3); 4,500 (T1xT4); 26,018; 16,910 (T1xT5); 1,500 (T1xT6); 5,435 (T2xT3); 27,974 (T2xT5); 18,579 (T2xT6); 1,252 (T3xT4); 17,613 (T3xT5); 9,993 (T3xT6); 10,052 (T4xT5); 4,344 (T4xT6); 1,332 (T5xT6).

Tabela 3 – Número de células em interfase, células em divisão e índice mitótico para mesistemas radiculares de trigo submetidos a diferentes efeitos de tratamento com envelhecimento acelerado, em 400 células avaliadas por tratamento. UFSM, Santa Maria, 2013.

| Tratamento | Total de células analisadas | Células em interfase | Células em divisão | Índice mitótico (%) |
|----------------------------|-----------------------------|----------------------|--------------------|---------------------|
| Cultivar Campo Real | | | | |
| T1 ¹ | 400 | 312 | 88 | 22,00a* |
| T2 | 400 | 338 | 62 | 15,50b |
| T3 | 400 | 346 | 54 | 13,50c |
| T4 | 400 | 352 | 48 | 12,00d |
| T5 | 400 | 364 | 36 | 9,00e |
| T6 | 400 | 384 | 16 | 4,00f |
| Cultivar Ônix | | | | |
| T1 | 400 | 351 | 49 | 12,25a |
| T2 | 400 | 345 | 55 | 12,75a |
| T3 | 400 | 360 | 40 | 10,00b |
| T4 | 400 | 368 | 32 | 8,00c |
| T5 | 400 | 383 | 17 | 4,25d |
| T6 | 400 | 388 | 12 | 3,00e |

*Tratamentos não seguidos de mesma letra, diferem pelo teste de χ^2 em nível de 5% de probabilidade de erro.

¹T1: Testemunha (sementes não submetidas ao envelhecimento acelerado); T2: envelhecimento acelerado por 24 horas à 42°C; T3: envelhecimento acelerado por 48 horas à 42°C; T4: envelhecimento acelerado por 72 horas à 42°C; T5: envelhecimento acelerado por 96 horas à 42°C; T6: envelhecimento acelerado por 120 horas à 42°C.

Em estudos com sementes de trigo e cevada envelhecidas foi observado que, com o aumento do tempo, a porcentagem de células em divisão diminuiu. O índice mitótico foi de 3,07% e 3,15% em pontas das raízes de trigo e cevada, respectivamente, após longo período de envelhecimento das sementes, comparados com índices anteriores de 8,71% e 10,21% (AKHTER et al., (1992). Resultados diferentes foram encontrados em sementes de araucária submetidas ao envelhecimento artificial, às temperaturas de 30°C e 40°C, nos períodos de 0, 3, 6 e 9 dias, não apresentando efeito significativo para os tratamentos sobre o índice mitótico, embora tenha ocorrido diminuição significativa tanto da germinação quanto do vigor das sementes submetidas ao envelhecimento à 40°C (DAVIDE, 2001).

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados do aparecimento de alterações celulares das cultivares Campo Real e Ônix. Observa-se que houve diferença significativa entre todos os tratamentos para cultivar Campo Real, conforme os valores do χ^2 : T1xT2 ($X^2=7,055$); T1xT3 ($X^2=6,928$); T1xT4 ($X^2=11,617$); T1xT5 ($X^2=19,172$); T1xT6 ($X^2=44,593$); T2xT3 ($X^2=4,173$); T2xT4 ($X^2=2,589$); T2xT5 ($X^2=11,955$); T2xT6 ($X^2=30,960$); T3xT4 ($X^2=1,629$); T3xT5 ($X^2=3,531$); T3xT6 ($X^2=19,258$); T4xT5 ($X^2=4,095$.); T4xT6 ($X^2=17,206$); T5xT6 ($X^2=7,228$). Ou seja, a maior frequência de irregularidades cromossômicas foi encontrada no tratamento 2, seguido pelo T4, T6, T3, T5 e T1, desse modo, parece não haver um padrão específico para o aparecimento e para a frequência de irregularidades que combine com a intensidade de estresse causada pelos tratamentos de envelhecimento artificial. O envelhecimento acelerado promoveu uma homogeneização das sementes, ou seja, as sementes mais vigorosas foram afetadas com mais intensidade, contrastando com a afirmação de Jianhua; McDonald (1996), de que sementes de menor qualidade deterioram-se mais rapidamente do que as mais vigorosas. As principais alterações cromossômicas observadas foram quebras e cromossomos perdidos, além de pontes anafásicas (Figuras 1 e 2).

Tabela 4 – Número de células em divisão, número e tipos de aberrações celulares e número total de células irregulares. UFSM, Santa Maria, 2013.

| Tratamento | Células em divisão | Células MN* | | Quebras e cromossomos perdidos | Células binucleadas | Pontes | Células desorganizadas | Total de células irregulares em divisão | Células com irregularidades (%) | |
|---------------------|--------------------|-------------|---------|--------------------------------|---------------------|--------|------------------------|---|---------------------------------|--|
| | | Interfase | Divisão | | | | | | | |
| Cultivar Campo Real | | | | | | | | | | |
| T1 ¹ | 88 | - | - | - | - | 2 | - | 2 | 2,30f** | |
| T2 | 64 | - | - | 2 | 1 | 4 | 2 | 8 | 12,50 ^a | |
| T3 | 54 | 1 | - | - | - | 1 | 1 | 2 | 3,70 ^d | |
| T4 | 48 | 12 | 1 | 2 | 1 | - | 1 | 5 | 10,40 ^b | |
| T5 | 36 | 3 | 1 | - | - | - | - | 1 | 2,80 ^e | |
| T6 | 16 | 1 | - | - | - | - | 1 | 1 | 6,20 ^c | |
| Cultivar Ônix | | | | | | | | | | |
| T1 | 49 | - | - | 1 | - | - | - | 1 | 2,00 ^e | |
| T2 | 55 | 3 | - | - | 1 | 1 | - | 1 | 1,80 ^e | |
| T3 | 40 | 1 | 1 | - | - | 1 | - | 2 | 5,00 ^c | |
| T4 | 32 | 1 | 1 | - | - | - | - | 1 | 3,10 ^d | |
| T5 | 17 | - | 1 | - | - | - | - | 1 | 5,90 ^b | |
| T6 | 12 | - | - | 1 | 1 | - | 3 | 5 | 41,70 ^a | |

*Células micronucleadas

** Tratamentos não seguidos de mesma letra, diferem pelo teste de χ^2 em nível de 5% de probabilidade de erro.¹T1: Testemunha (sementes não submetidas ao envelhecimento acelerado); T2: envelhecimento acelerado por 24 horas à 42°C; T3: envelhecimento acelerado por 48 horas à 42°C; T4: envelhecimento acelerado por 72 horas à 42°C; T5: envelhecimento acelerado por 96 horas à 42°C; T6: envelhecimento acelerado por 120 horas à 42°C.

Sementes de cevada foram envelhecidas artificialmente para estudar o comportamento de induções de aberrações cromossômicas e, as frequências de anáfases aberrantes foram maiores nas primeiras mitoses e, ainda, correlacionadas com a perda da capacidade de germinação. No entanto, após cinco semanas de crescimento das plântulas, houve diminuição na frequência dessas anomalias, sugerindo que as células com cromossomos aberrantes induzidos pelo envelhecimento das sementes estavam sendo excluídas durante o crescimento das plântulas (MURATA et al., 1981).

Em estudos relativos à fisiologia e à citogenética de sementes de araucária envelhecidas artificialmente, foi observado um aumento na frequência de células anormais, proporcional ao tempo de exposição o envelhecimento acelerado, O envelhecimento à temperatura de 30°C por períodos de 3, 6 e 9 dias, causou, respectivamente, 1,8; 2,5 e 4,8 vezes mais alterações que as observadas na testemunha. Os tipos de alterações encontradas foram: micronúcleos, núcleos fragmentados, e pontes anafásicas e telofásicas (DAVIDE, 2001). Ribeiro et al. (2010), em trabalho realizado com acessos de trigo submetidos a condições de armazenamento a longo e médio prazo, mostraram que, independente das condições de armazenamento das sementes, dos 27 acessos analisados, 33% destes apresentaram frequência de células com irregularidades abaixo de 10% e, cinco desses acessos (18,5%) não apresentaram células mitóticas irregulares.

Trabalhos com sementes de trigo e cevada envelhecidas observaram a ocorrência de vários tipos de cromossomos irregulares, sendo, a maioria, caracterizada por separação precoce dos cromossomos, inativação do mecanismo do fuso, cromossomos fragmentados ou quebras e pontes cromossômicas. Houve um padrão de aumento da frequência e aberrações com o aumento do tempo de envelhecimento das sementes, intimamente correlacionado com a perda de germinação em ambas as espécies (AKHTER et al., 1992). Ainda, Ribeiro et al. (2010) verificaram a ocorrência de metáfase com quebras de cromossomos, anáfases com pontes e/ou fragmentos acêntricos, aderências e cromátides retardatárias.

Para a cultivar Ônix não houve diferença significativa entre os tratamentos 1 e 2, porém ocorreu entre os demais, conforme dados do χ^2 a seguir: T1xT3 ($X^2=1,172$); T1xT4 ($X^2=3,242$); T1xT5 ($X^2=14,355$); T1xT6 ($X^2=23,888$); T2xT3 ($X^2=2,484$); T2xT4 ($X^2=5,489$); T2xT5 ($X^2=18,438$); T2xT6 ($X^2=28,578$); T3xT4 ($X^2=1,130$); T3xT5 ($X^2=8,951$); T3xT6 ($X^2=15,648$); T4xT5 ($X^2=4,329$); T4xT6 ($X^2=11,460$); T5xT6 ($X^2=3,528$). As maiores frequências de aberrações cromossômicas foram encontradas no tratamento T6, aquele com maior nível de estresse causado às sementes de trigo, seguido por T5, T3 e T4. Assim, para essa cultivar houve a verificação de um padrão para o aparecimento e frequência de

irregularidades condizentes com a intensidade de estresse causada pelos tratamentos de envelhecimento artificial, podendo-se inferir um efeito genotípico. Ribeiro et al. (2010) verificaram, através de análise citogenética de acessos de trigo sob diferentes condições e prazos de armazenamento, que a ocorrência de anormalidades cromossômicas esteja vinculada ao acesso estudado.

Para ambas as cultivares, foram encontrados micronúcleos encontrados na interfase, principalmente no T4, da cultivar Campo Real. Micronúcleos são estruturas resultantes de cromossomos inteiros ou de fragmentos cromossômicos que se perdem na divisão celular e, por isso, não são incluídos no núcleo das células filhas, permanecendo no citoplasma das células interfásicas (HEDDLE et al., 1983), portanto, podem refletir na ocorrência de danos estruturais causados pelo envelhecimento das sementes.

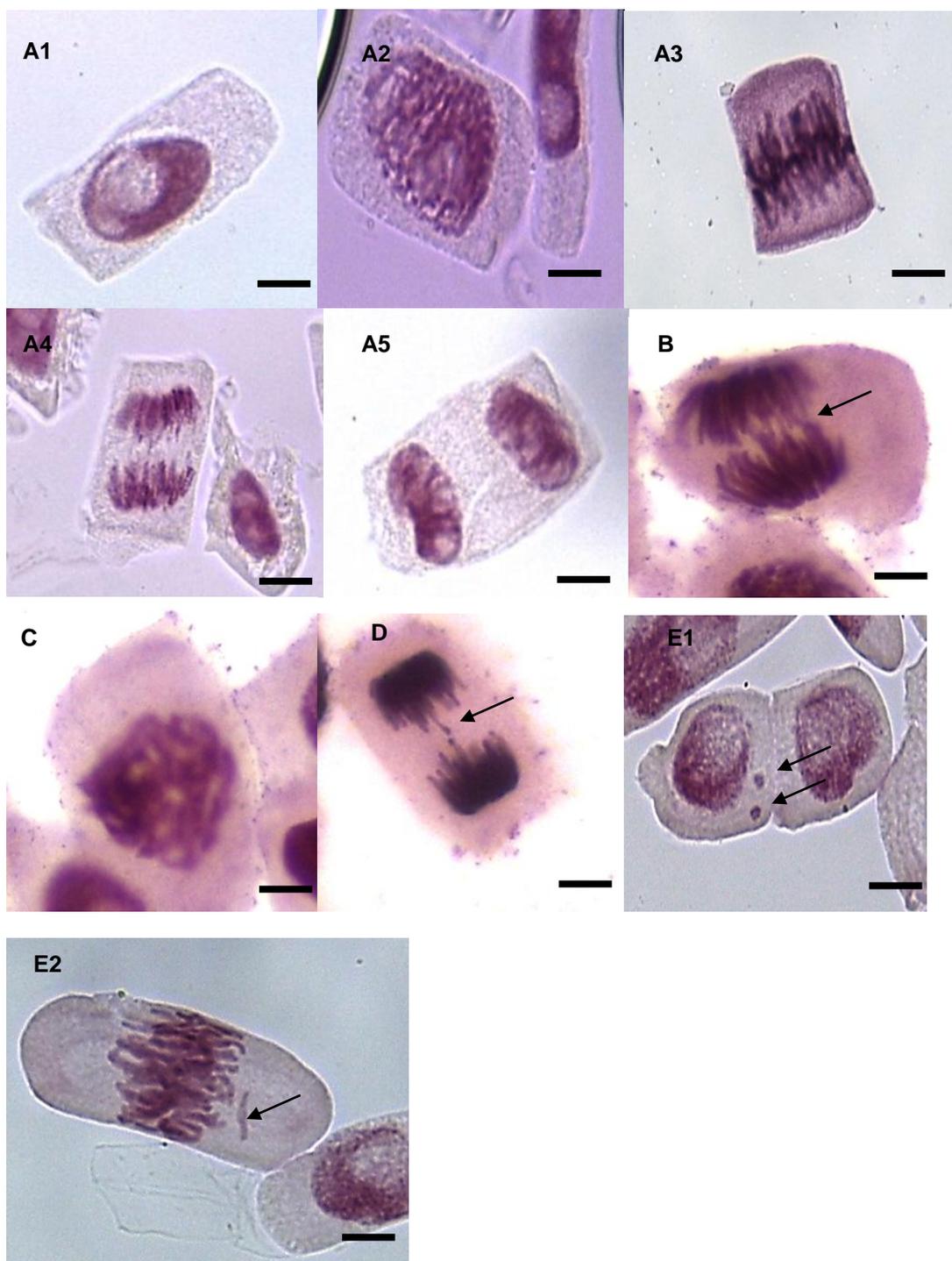


Figura 1 – Células de *Triticum aestivum* L. em diferentes fases da divisão celular da cultivar Campo Real. Células em interfase (A1) e em divisão celular normal (prófase, metáfase, anáfase e telófase, correspondendo, respectivamente a: A2, A3, A4 e A5, do tratamento 1 (controle); **B**: célula com ponte anafásica do tratamento testemunha -T1; **C**: célula com prófase desorganizada do tratamento com 24 horas de envelhecimento acelerado – T2; **D**: célula com ponte telofásica do tratamento com 48 horas de envelhecimento celerado – T3; **E1** e **E2**: célula com dois micronúcleos e célula em metáfase com cromossomo perdido do tratamento com 72 horas de envelhecimento- T4. Células em divisão, referentes aos tratamentos com, 96 e 120 horas de envelhecimento acelerado não estão apresentadas porque retratam prófase desorganizada e micronúcleo, as quais já, foram apresentadas (C e E1).

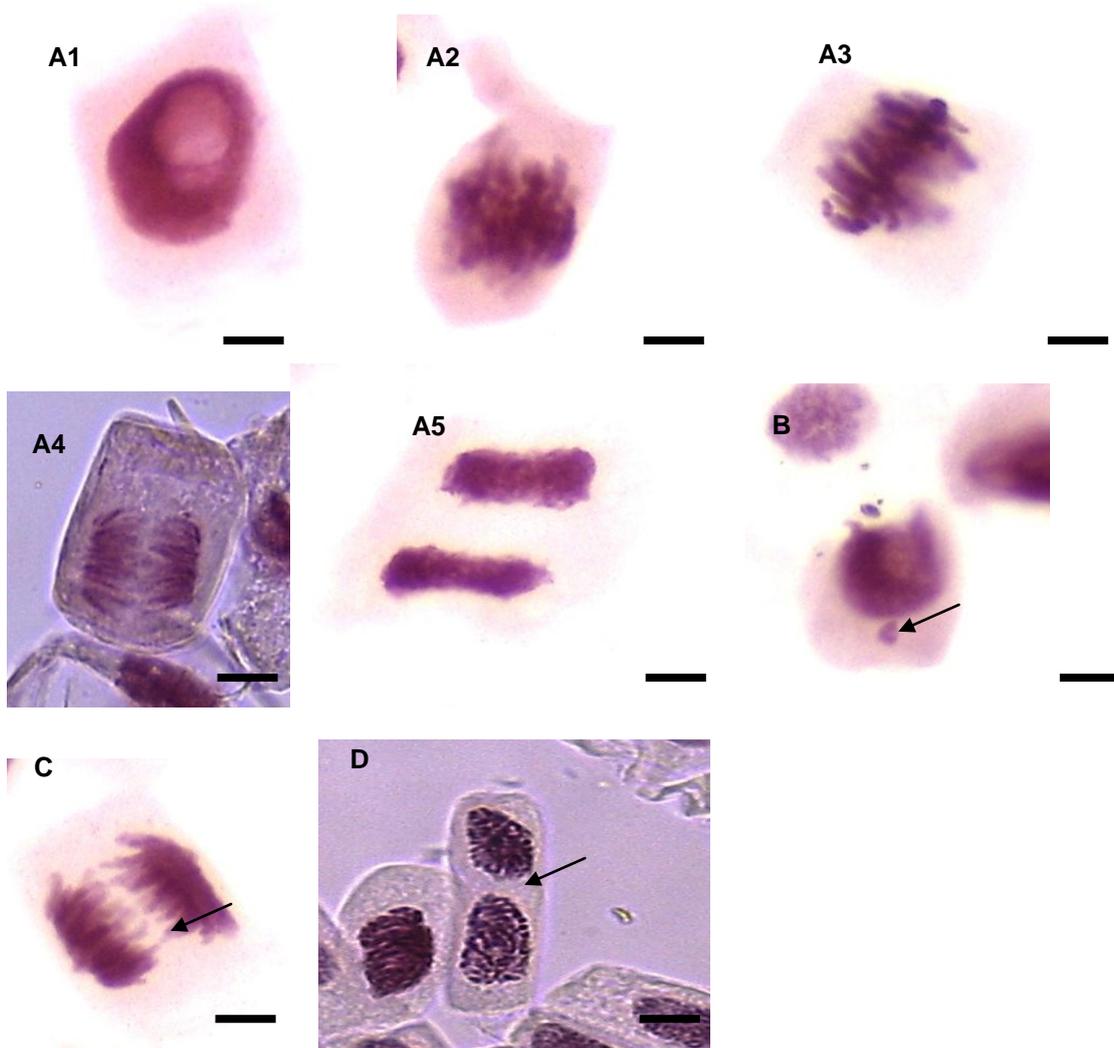


Figura 2 – Células de *Triticum aestivum* L. em diferentes fases da divisão celular da cultivar Ônix. Células em interfase (A1) e em divisão celular normal (prófase, metáfase, anáfase e telófase, correspondendo, respectivamente a: A2, A3, A4 e A5, do tratamento 1 (controle); **B**: célula com micronúcleo do tratamento com 24 horas de envelhecimento- T2. **C**: célula com ponte anafásica do tratamento testemunha com 48 horas de envelhecimento acelerado – T3; **D**: célula binucleada em prófase do tratamento com 120 horas de envelhecimento acelerado – T6. Os tratamentos com 72 e 96 horas de envelhecimento acelerado (T4 e T5, respectivamente) apresentaram células em divisão, mas que não foram identificadas.

É interessante salientar que as alterações observadas nesse trabalho, isto é, micronúcleos, pontes e fragmentos nas anáfases e metáfases, podem ser consequentes de quebras de DNA. As pontes, fragmentos ou quebras e micronúcleos são oriundas de deficiências e inversões de segmentos gerados pelas quebras. Essas quebras expõem o DNA a ação de enzimas exonucleases e endonucleases (CHEAH; OSBORN, 1978), levando a um prejuízo no material genético. Sabe-se que a síntese de DNA e a atividade das enzimas DNA polimerase e ligase tornam-se reduzidas em sementes de milho deterioradas, inibindo ou

retardando os mecanismos de reparo do DNA (VÁZQUEZ-RAMOS et al., 1991; COELLO; VÁZQUEZ-RAMOS, 1996). Isso acarretaria em uma transferência incorreta de informação do núcleo para o citoplasma, levando a perda de vigor de viabilidade das sementes (VÁZQUEZ; VÁSQUEZ-RAMOS, 1991). O envelhecimento teria, portanto, como uma de suas principais características, as quebras do DNA e as alterações no metabolismo do DNA, levando a redução da atividade funcional dos mecanismos de restauração, especificamente, relativo à velocidade com que atua e a fidelidade com que reproduz a estrutura danificada (WARNER; PRICE, 1989). Isso explicaria a queda da porcentagem e velocidade de germinação das sementes e o aumento de células anormais que se verifica à medida que as sementes se deterioraram.

2.4 Conclusões

O estresse causado pelo envelhecimento acelerado nas sementes de trigo de ambas as cultivares leva a uma drástica redução no índice mitótico.

O índice mitótico foi eficiente em detectar o início do processo de deterioração.

O envelhecimento acelerado aplicado às sementes de trigo leva ao aumento da frequência de anomalias cromossômicas, com respostas distintas para as cultivares analisadas e, possivelmente, vinculado a efeito genotípico.

2.5 Referências

ABDALLA, F. H., ROBERTS, E. H. The effects of temperature and, moisture, on the induction of genetic damage in seeds of barley, broad beans, and pea during storage. **Annals of Botany**, New York, v. 33, p. 153-167, 1969.

ABDALLA, F. H.; ROBERTS, E. H. Effects of temperature, moisture, and oxygen on the induction of chromosome damage in seeds of barley, broad beans, and pea during storage. **Annals of Botany**, New York, v. 32, p. 119-136, 1968.

AKHTER, F. N.; KABIR, G.; MANNAN, M. A.; SHAHEEN, N. N. (1992) Aging effect of wheat and barley seeds upon germination, mitotic index and chromosomal damage. **Journal of Islamic Academy of Sciences**. 5 (1): 44-48. 1992.

ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; MARTORELLI, D. T.; ALBRECHT, L. P. Testes de laboratório em sementes de canola e a correlação com a emergência das plântulas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 62-70, 2005.

AYRES, M. **Bioestat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, Brasília: CNPq, 290p. 2007.

BAILLY, C; BENAMAR, A; CORBINEAU, F; COME, D. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiologia Plantarum**, v. 97, p. 104-110, 1996.

BARBOSA, R. M.; da COSTA, D. S.; de SÁ, M. U. Envelhecimento acelerado de sementes de espécies oleráceas. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 41, n. 3, p. 328-335, 2011.

BARROS, D. I.; NUNES, H. V.; DIAS, D. C. F. S.; BHERING, M. C. Comparação entre testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 4, n. 2, p. 12-16, 2002.

BASAVARAJAPPA, B. S.; SHETTY, H. S.; PRAKASH, H. S. Membrane deterioration and other biochemical changes, associated with accelerated ageing of maize seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 19, n. 2, p. 279-286, 1991.

BINOTTI, F. F. S.; HAGA, K. I.; CARDOSO, E. D.; ALVES, C. Z.; SÁ, M. E.; ARF, O. Efeito do período de envelhecimento acelerado no teste de condutividade elétrica e na qualidade fisiológica de sementes de feijão. **Acta Scientiarum**. Agronomy, v. 30, n. 2, p. 247-254, 2008.

BOLIGON, A. A. **Emergência de plântulas de abóbora e de trigo a partir da avaliação da qualidade das sementes**. 2010. 57 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria: 2010.

BRACCINI, A. L.; REIS, M. S.; SEDIYAMA, C. S.; SCAPIM, C. A.; BRACCINI, M. C. L. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja, após o processo de hidratação-desidratação e envelhecimento acelerado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 6, p. 1053-1066, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399p.

CARDOSO R. D. L. **Caracterização morfológica e citológica de gérbera: subsídios para o melhoramento genético**. 2007. 174p. (Tese mestrado) – Passo Fundo: UPF. 2007.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.

CAUDERÓN, Y. Cytogenetics in breeding programmes dealing with polyploidy, interspecific hybridization and introgression. In: HORN, JENSEN, ODENBACH, SCHIEDER, eds. **Genetic manipulation in plant breeding control**. Berlin – New York: Walter de Gruyter – Printed in Germany, p.83-104.

CHASURISRI, K.; EDWARDS, D. C. W.; EL-KASSABY, Y. A. Accelerated aging of Sitka Spruce seeds. **Silvae Genetica**, v. 42, n. 6, p. 303-308, 1993.

CHEACH, K. S.; OSBORN, D. DNA lesions occur with loss of viability in embryos of ageing sycamore seed. **Nature**, London, v. 272, n. 5654, p. 593-599, 1978.

COELLO, P. & VÁZQUEZ-RAMOS, M. Maize DNA polymerase 2 (an α -type enzyme) suffers major damage after seed deterioration. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 6, n. 1, p. 1-7, 1996.

CORBINEAU, F. et al. Induction of secondary dormancy in sunflower seeds by high temperature. Possible involvement of ethylene biosynthesis. **Physiologia Plantarum**, v.73, n.3, p.489-496, 1988.

CORBINEAU, F., et al. Decrease in sunflower (*Helianthus annuus*) seed viability caused by high temperature as related to energy metabolism, membrane damage and lipid composition. **Physiologia Plantarum**, v. 116, p. 489-496, 2002.

DAVIDE, A. C.; DAVIDE, L. C.; FONTES, B. P. D. Fisiologia e citogenética de sementes envelhecidas de *Araucaria angustifolia*. **Ciênc. agrotec.**, v. 25, n. 2, p. 346-355, 2001.

DELOUCHE, J. C. Deterioração de sementes. **SEED News**, Pelotas, v. 6, n. 6, p. 24-31, 2002.

DELOUCHE, J. C. Planting seed quality. Mississippi: Mississippi State University, 1969. 16 p.

DELOUCHE, J.C. & BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Sci. and Technol**, v.1, n. 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**, v. 53, n. 1, p. 31-42, 1996.

DIAS, D. C. F.; VIEIRA, A. N.; BHERING, M. C. Condutividade elétrica e lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de hortaliças: feijão de vagem e quiabo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 408-413, 1998.

DUTRA, A. S.; VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de abobrinha. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p. 117-122, 2006.

DUTRA, L. M. C.; ZABOT, L.; LUDWIG, M. P. JAUER; A.; Cobertura do solo na cultura do feijoeiro comum. **Informe técnico**, n. 25-2006, p. 4. Santa Maria, 2006.

FANAN, S.; MEDINA, P. F.; LIMA, T. C.; MARCOS FILHO, J. M. Avaliação do vigor de sementes de trigo pelos testes de envelhecimento acelerado e de frio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p. 152-158, 2006.

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

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2008.

FRANCO, D. F.; PERINI, J. A. Testes de vigor em sementes de arroz. EMBRAPA Clima Temperado. **Comunicado Técnico**, 68. Pelotas, 2002.

GAY, C.; CORBINEAU, F.; CÔME, D. **Effects of temperature and oxygen on seed germination and seedling growth in sunflower (*Heliantus annuus L.*)**. Environmental and Experimental Botany, Elmsford, v. 31, p. 193- 200, 1991.

GHOSH, B.; ADHIKARY, J.; BANERJEE, N.C. Changes of some metabolites in rice seeds during aging. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 9, p. 469-473, 1981.

GUERRA, M. & SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos – Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto: FUNPEC, 131p. 2002.

HEDDLE, J. A. et al. The introduction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report of the US Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutat Res**, v. 123, p. 118, 1983.

HESLOP-HARISSON, J. S. Applications of molecular cytogenetics in the Triticeae. In: DAMANIA, A. B (Ed.) **Biodiversity and wheat improvement**. A Wiley-Savce Publication, p. 31-38. 1993.

JIANHUA, Z.; McDONALD, M.B. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. **Seed Science and Technology**, v. 25, p. 123-131, 1996.

KIBINZA, S. et al. Sunflower seed deterioration as related to moisture content during ageing, energy metabolism and active oxygen species scavenging. **Plant Physiology**. v.128, p.496-506, 2006.

LIMA, T. C.; MEDINA, P. F.; FANAN, S. Avaliação do vigor de trigo pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 1, p. 106-113, 2006.

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

MAIA, A. R.; LOPES, J. C.; TEIXEIRA, C. O. Efeito do envelhecimento acelerado na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras-MG: v. 31, p. 678-684, 2007.

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

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. p. 1-21.

MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Eds). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: Funep, 1994. p. 133-150.

McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, v. 27, p. 177-237, 1999.

McGEE, D. C. Introduction. In: Symposium on deterioration mechanisms in seeds. Introduction. **Phytopatology**, St. Paul, v. 73, n. 2, p. 314-317, 1983.

MONDIN, M.; DOCHA NETO, A. **Citogenética vegetal enfatizando a Orchidaceae**. **Orchidstudium**, v. 4, p. 24-54, 2006.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. Domesticar o grão. **Ciência Hoje**, v. 17, p. 38-45, 1985.

MURATA, M.; ROSS, E. E.; TSUCHIYA, T. Chromosome damage induced by artificial seed aging in barley. I. Germinability and frequency of aberrant anaphases at first mitosis. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v. 23, n. 2, p. 267-280, 1981.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C. et al. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-2.21

OLIVEIRA, S. R. S.; NOVENBRE, A. D. L. C. Teste de condutividade elétrica para as sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 31-36, 2005.

RILEY, R. **The diploidisation of polyploids wheat**. **Heredity**, v. 15, p. 407-429, 1960.

ROBERTS, E. H. 1973. Predicting the storage life of seeds. **Seed Sci. & Technol.**, 1:499-514.

ROBERTS, E. H. Loss of seed viability: chromosomal and genetic aspects. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 3, p. 515-27, 1973.

RODO, A. B.; TILLMANN, M. A. A.; VILLELA, F. A. Testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, 20: 23-28. 1998.

SANTOS, P. M.; GONDIM, T. C. O.; ARAÚJO, E. F.; DIAS, D. C. F. S. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho-doce pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 24, n. 1, p. 91-96, 2002.

SELVA MEENA RAJAGOPAL, A.; SEN-MANDI, S. Studies on acid and alkaline phosphatases in aged rice embryos. **Seed Sci. & Technol.**, v. 20, p. 215-222, 1992

STUESSY, F. O. D. F. **Plant taxonomy: a systematic evolution of comparative data**. New York, Columbia University Press, p. 514, 1990.

TORRES, S. B. Qualidade de sementes de melancia armazenadas em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Ciência Agronômica**, v. 36, p. 163-168, 2005.

VANZOLINI, S.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade de condutividade elétrica em sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. 151-158, 2005.

VÁZQUEZ, E.; MONTIEL, F.; VÁZQUEZ-RAMOS, J. M. DNA ligase activity in deteriorated maize embryo axes during germination: a model relating defects in DNA metabolism in seed to loss of germinability. **Seed Science Research**, v. 1, p. 269-273, 1991.

VÁZQUEZ-RAMOS, J. M.; LOPEZ, S.; VÁZQUEZ, E.; MURILLO, E. DNA integrity and DNA polymerase activity in deteriorated maize embryo axes. **Journal of Plant Physiology**, London, v. 133, p. 600-604, 1988.

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

VILLIERS, T. A. Seed aging: chromosome stability and extended viability of seed stored fully imbibed. **Plant Physiology**, Osney Mead, v. 53, p. 875-878, 1974.

WARNER, H. R.; PRICE, A. R. Involvement of DNA repair in cancer and aging. **Journal of Gerontology: Biological Sciences**, v. 44, n. 6, p. 45-54,

2.6 Apêndices

APÊNDICE A – Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância dos testes de primeira contagem de germinação (PG), germinação (G) e condutividade elétrica massal para sementes de trigo das cultivares Ônix e Fundacep Campo Real submetidas a seis tratamentos. UFSM, Santa Maria, 2013.

| FV | GL | Ônix | | | | Fundacep Campo Real | | | |
|------------|----|------------------|-----------|------------------|----------|---------------------|-----|------------------|-----|
| | | Quadrados Médios | | Quadrados Médios | | Quadrados Médios | | Quadrados Médios | |
| | | PG | G | PG | G | CEM | CEM | CEM | CEM |
| Tratamento | 5 | 1828,66* | 11,38,70* | 2342,97* | 1475,74* | 1799,08* | | 4632,71* | |
| Resíduo | 18 | 6,14 | 5,81 | 21,21 | 15,41 | 386,75 | | 589,91 | |
| CV (%) | | 3,15 | 2,87 | 7,53 | 4,72 | 26,7 | | 24,91 | |
| Média | | 78,58 | 84,01 | 61,12 | 82,21 | 73,65 | | 97,51 | |

* Significativo pelo teste F em 5% de probabilidade de erro.

APÊNDICE B – Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância dos testes de emergência a campo (EC) e índice de velocidade de emergência (IVE) para sementes de trigo das cultivares Ônix e Fundacep Campo Real submetidas a seis tratamentos. UFSM, Santa Maria, 2013.

| FV | GL | Ônix | | Fundacep Campo Real | |
|------------|----|------------------|---------|---------------------|---------|
| | | Quadrados Médios | | | |
| | | EC | IVE | EC | IVE |
| Bloco | 3 | 179,67 | 58,76 | 138,81 | 184,88* |
| Tratamento | 5 | 1578,20* | 545,83* | 1763,47* | 465,30* |
| Resíduo | 15 | 58,40 | 36,63 | 77,25 | 38,96 |
| CV (%) | | 13,18 | 22,03 | 17,62 | 23,33 |
| Média | | 58,00 | 27,50 | 49,87 | 26,76 |

* Significativo pelo teste F em 5% de probabilidade de erro.

CAPÍTULO III

TAMANHO DE AMOSTRA PARA AVALIAÇÃO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA INDIVIDUAL DE SEMENTES DE TRIGO

Resumo

O retorno econômico das culturas agrícolas depende da qualidade das sementes utilizadas. Para avaliação da qualidade fisiológica das sementes, um dos testes de vigor que pode ser utilizado é o teste de condutividade elétrica individual, que avalia a liberação de metabólitos intracelulares durante o processo de embebição das sementes. Para a realização de experimentos de qualidade, ou seja, passíveis de detectarem diferenças entre tratamentos, é necessário determinar o tamanho ideal de amostra. Assim, o objetivo deste trabalho foi estimar o tamanho de amostra, em número de sementes, necessário para a estimação da média de condutividade elétrica individual de sementes de trigo em diferentes tempos de embebição das sementes. utilizando sementes de dez lotes de cinco cultivares: Fundacep, Horizonte, Fundacep Campo Real, Quartzo, Mirante e Ônix, subdivididas em dois sublotos de sementes para cada cultivar (alto e baixo vigor) através da metodologia do envelhecimento acelerado. Com o auxílio de um Analisador Automático de Sementes (SAD 9000-S) foi realizado o teste de condutividade elétrica individual com 400 sementes de cada lote. Realizou-se um processo iterativo de reamostragem com 1000 reamostragens, com reposição, utilizando diferentes tamanhos de amostras, iniciando com uma semente e acrescentando uma semente em cada iteração até o tamanho máximo de 400 sementes. Obtendo assim 1000 médias de condutividade elétrica para cada um dos 400 tamanhos de amostras utilizados, a partir desses dados de médias de condutividade elétrica estimaram-se as estatísticas: valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e valor máximo e a amplitude do intervalo de confiança de 95% foi determinada pela diferença entre o percentil 97,5% e o 2,5%. A amostragem, em número de sementes de trigo, para avaliar a condutividade elétrica individual é de 44 sementes, para lotes em que não foram aplicados o envelhecimento acelerado, é de 27 sementes, para lotes envelhecidos artificialmente, para amplitudes de 3 a 5 $\mu\text{S cm}^{-1}$ semente⁻¹, para tempos de embebição das sementes de uma a 24 horas.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L.. Reamostragem. Precisão experimental.

Abstract

The economic income of the agricultural cultivation depends on the quality of the used seeds. For the physical quality evaluation of the seeds, one of the vigor tests that can be utilized is the individual electric conductivity, which evaluates intracellular metabolic release during the soaking process of the seeds. For the realization of quality experiments, in other words, liable to detect differences between the treatments, it is necessary to determinate the ideal size of the sample. Therefore, the objective of this work was to estimate the sample size, in seeds number, which is necessary for the average estimation of the individual electric conductivity of wheat seeds in different soaking times of the

seeds, using seeds from ten groups of five varieties: *Fundacep Horizonte*, *Fundacep Campo Real*, *Quartzo*, *Mirante* and *Onix*, subdivided into two subgroups of seeds for each variety (high and low vigor) through the methodology of the accelerated aging. With the help of the Automatic Seed Analyzer (SAD 9000-S) the individual electric conductivity test was realized with 400 seeds of each group. An interactive resampling process was done with 1000 resamplings, with restitution, using different sample sizes, starting with one seed and adding one seed in each iteration until the maximum size of 400 seeds. Therefore obtaining 1000 averages of electric conductivity for each one of the 400 sizes of used samples, from these data the average electric conductivity, the following statistics were estimated: minimum value, percentage of 2,5%, average, percentage of 97,5% and the maximum value and the confidence interval of 95% was determined through the difference between the percentage of 97,5% and 2,5%. The sampling, in wheat seeds number, to evaluate the individual electric conductivity is of 44 seeds. For groups that the accelerated aging was not applied, is of 27 seeds. For groups artificially aged, using amplitudes of 3 to 5 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ seed}^{-1}$, times of soaking of the seeds from one to 24 hours.

Key-words: *Triticum aestivum L.*. Resampling. Experimental precision.

3.1 Introdução

3.1.1 Qualidade das sementes e teste e condutividade elétrica individual

O retorno econômico das culturas agrícolas depende em grande parte da qualidade das sementes utilizadas, sendo que, até mesmo, pequenos descuidos, com esse insumo podem gerar perdas irreversíveis no estande de plantas e, conseqüentemente na produtividade. O avanço da agricultura somente se tornou possível, devido à capacidade de laboratórios de análises de rotina e de instituições de pesquisa desenvolverem e reproduzirem uma série de testes aptos a qualificar as sementes quanto ao seu potencial germinativo e de vigor, de modo a produzir sementes de qualidade capazes de gerar plântulas, também, de qualidade, ou seja, com alto potencial de produção.

Dentre os objetivos fundamentais de um sistema de produção de sementes, está a obtenção de uma maior qualidade fisiológica, permitindo que as características das espécies sejam mantidas e expressas em campo. Assim, é de grande importância o desenvolvimento de testes para a avaliação rápida e precisa da qualidade fisiológica das sementes permitindo estimar o desempenho em condições do ambiente, bem como seu potencial de armazenamento e, assim diminuindo riscos decorrentes da comercialização de lotes deficientes ou comprometidos em qualidade (MENEZES, 2009).

Como, rotineiramente, o potencial fisiológico dos lotes de sementes é avaliado pelo teste de germinação, o qual, apresenta inúmeras limitações, há um interesse crescente pelos

diversos testes de vigor, como uma complementação ao de germinação, visando detectar diferenças representativas à qualidade das sementes. Os testes de vigor são bons indicadores na avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes com capacidade germinativa semelhante, pois possuem uma maior sensibilidade (MARCHI; CÍCERO, 2002). A sensibilidade dos testes de vigor está correlacionada com eventos intrínsecos ao processo natural de deterioração das sementes, o qual, precede a perda da capacidade germinativa, ou seja, quanto mais próximo do estágio de maturidade fisiológica as sementes estiverem, o teste de vigor utilizado será mais sensível e apto para mensurar a qualidade da semente, referente ao parâmetro avaliado (PERRY, 1981; AOSA 1983; KRZYZANOWSKI et al., 1999).

Sabe-se que o processo de deterioração das sementes tem seu início com a degradação do sistema de membranas celulares, os métodos que têm a capacidade de avaliarem essa degradação se destacam como sendo os mais indicados para a diferenciação de lotes de sementes com pequenas diferenças de vigor, assim, detectando, o processo de deterioração na sua fase primária (DESAI et al., 1997; KRZYZANOWSKI et al., 1999).

Diante dessas constatações, verifica-se que os testes de condutividade elétrica massal ou individual (STEERE et al., 1981; FICK; HIBBARD, 1925), os quais, relacionam o vigor das sementes com a integridade do sistema das membranas celulares, ou seja, baseiam-se na permeabilidade das membranas, e, assim, avaliam a liberação de metabólitos intracelulares durante o processo de embebição das sementes (MATTHEWS; POWELL, 1981; AOSA, 2002; MARCOS FILHO et al., 1987; BARROS; MARCOS FILHO, 1997), consistem em testes muito promissores na avaliação do vigor de lotes de sementes de diversas espécies.

Porém, como não existe uma metodologia específica para cada cultura, determinada nas Regras de Análise de Sementes – RAS, ainda, se faz necessária uma adaptação da mesma, pois vários fatores são relevantes para o sucesso do teste, podendo afetar de forma substancial os resultados obtidos, como, por exemplo, o número de sementes testadas, o volume da água de imersão para a hidratação das sementes, a duração do período de imersão, a qualidade da água, a temperatura de hidratação, o grau de umidade inicial das sementes, o genótipo, dentre outros (VIEIRA, 1994).

O número de sementes utilizadas ou o tamanho a amostra é um fator relevante a ser analisado. Quando o teste de condutividade elétrica é conduzido de forma massal já existem diversos tamanhos de amostras testados e recomendados, como, para sementes de cornichão e milho, a recomendação quanto ao número de sementes a ser utilizado para estimar o vigor é de 100 sementes (ARTOLA; CARRILLO-CASTAÑEDA, 2005; GASPAR; NAKAGAWA, 2002,) e para sementes de berinjela e pimentão, 25 sementes (NOVEMBRE et al., 2005).

Porém, SA (1999) observou que o tamanho da amostra (25, 50 e 100 sementes) não afeta os valores de condutividade elétrica para duas cultivares de tomate Petomech e Santa Clara.

No entanto, quando o teste de condutividade elétrica é realizado através da metodologia individual, a leitura dos dados é feita com o auxílio de um analisador automático de sementes e, este aparelho dispõe de uma bandeja com 100 alvéolos, onde, em cada um é colocada uma semente imersa em um volume de água pré determinado, sendo que, cada semente é analisada de forma individual.

3.1.2 Tamanho de amostra

Pouco se conhece sobre tamanho amostral para pesquisas na área de sementes e, principalmente com relação ao teste de condutividade elétrica individual, sendo que, normalmente as amostras são tomadas por citações de literaturas correlatas ou, até mesmo, por conveniência. Assim, em pesquisas utilizando o teste de condutividade elétrica individual, é importante dimensionar o tamanho da amostra, ou seja, o número de sementes adequado para avaliar a qualidade fisiológica das mesmas, pois essa metodologia já exige um número mínimo de 100 sementes, devido a utilização do analisador automático com 100 alvéolos, sendo que, esse número aumenta ainda mais, devido ao número de repetições utilizadas, e que o pesquisador, normalmente, considera cada bandeja como uma repetição.

É conhecido que a precisão das estimativas tende a aumentar com o aumento do tamanho da amostra (SILVA et al., 1993), pois quanto mais representativo o n amostral, maior a probabilidade de se encontrar diferença estatisticamente significativa entre as variáveis ou tratamentos analisados (MOURÃO JUNIOR, 2009). No entanto, estimativas utilizando amostras grandes exigem um tempo, relativamente amplo, trabalho extenso e alta demanda de recursos, o que pode comprometer a precisão dos resultados.

A partir de determinado tamanho da amostra, aumentos não trazem ganhos compensatórios na precisão. Desse modo, torna-se frequentemente, o interesse em trabalhos com tamanhos de amostras que permitam estimativas com precisões plausíveis e que não afetem o procedimento de amostragem.

O tamanho de amostra tem sido determinado para estimação da média de caracteres para várias culturas, como: mamona (CARGNELUTTI FILHO et al., 2010); soja (CARGNELUTTI FILHO et al., 2009); cana-de-açúcar (LEITE et al., 2009); erva-mate

(LUCIO et al., 2009); cenoura (SILVA et al., 2009), goiabeira (ROZANE et al., 2009), feijão (CARGNELUTTI FILHO et al., 2008), milho (CATAPATTI et al., 2008; STORCK et al., 2007); laranjeira (BELASQUE JUNIOR et al., 2008; LOPES et al., 2007) e algodão (FREITAS et al., 2001).

A determinação do tamanho da amostra necessária para a estimação da média de uma variável é imprescindível quando a população, em sua totalidade, não pode ser mensurada. Sendo o tamanho de amostra diretamente proporcional à variabilidade dos dados e à confiabilidade desejada na estimativa. A obtenção de estimativas com uma precisão adequada é consequência de um tamanho amostral apropriado, fato que, também, melhora a eficiência da pesquisa (HAESBAERT, 2013).

Novas metodologias para o estudo da amostragem têm surgido, sendo que, a utilização de intervalos de confiança de "bootstrap", obtidos por reamostragem com reposição é uma técnica adequada para este fim e, tem a conveniência de não depender da distribuição de probabilidade dos dados (FERREIRA, 2009).

3.1.2.1 O método bootstrap

Esta técnica consiste na retirada de amostras com reposição em uma amostra original (NUNES et al., 2006), em que a substituição das observações após a amostragem, permite criar tantas amostras quanto forem necessárias, sem a preocupação com a duplicação de amostras, exceto quando isso acontecer ao acaso (COSTA, 2006), possibilitando, assim, avaliar a dispersão e estimar erros-padrão dos estimadores, determinando sua precisão (EFRON; TIBSHIRANI, 1993). Além disso, pode-se utilizá-la em diversas situações para estimação de parâmetros, obtenção de intervalos de confiança para os parâmetros analisados, obtenção de distribuição empírica dos estimadores e determinação do tamanho da amostra (MANLY, 1997).

Cada amostra pode ser analisada independentemente e os resultados compilados ao longo da amostra. Por exemplo, a melhor estimativa da média é a média de todas as médias estimadas ao longo das amostras. Mesmo que redundante, isso sintetiza o princípio da técnica bootstrap, em que a amostra é observada como se representasse a população (EFRON, 1993).

A determinação do tamanho de amostra em trabalhos de pesquisa experimental na área de sementes é muitas vezes baseado em informações gerais para diferentes culturas, no

entanto, a utilização de amostragem dimensionada conforme a variabilidade dos dados e a precisão desejada permite aperfeiçoar a realização dos experimentos. Assim, o objetivo deste trabalho foi estimar o tamanho de amostra, em número de sementes, necessário para a estimação da média de condutividade elétrica individual de sementes de trigo em diferentes tempos de embebição das sementes.

3.2 Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Didático e de Pesquisa em Sementes (LDPS), do Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal de Santa Maria.

Foram utilizadas sementes de trigo pertencentes às cultivares Fundacep Horizonte, Fundacep Campo Real, Quartzo, Mirante e Ônix, adquiridas na empresa Imex Sul Insumos agrícolas Ltda., produzidas no município de Santa Maria, RS, e armazenadas em condições ideais, sem qualquer tipo de aditivo químico. Posteriormente, essas cinco cultivares foram subdivididas em dez lotes de vigor diferenciado.

Cada uma das cultivares de trigo foi fracionada em dois lotes e, em um deles foi aplicada a metodologia de envelhecimento acelerado, visando a obtenção de um decréscimo no vigor das sementes. Para isso, as sementes foram acondicionadas em câmara de envelhecimento acelerado, sobre telas de alumínio, fixadas em caixas. Esses lotes foram mantidos em condições adversas de elevada temperatura e umidade (42°C e UR próxima a 100%) (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999). As sementes permaneceram incubadas por período de 60 horas. Determinado através de pré-testes, até a obtenção de lotes com diferentes níveis de vigor.

Para a realização do teste de condutividade elétrica da solução de forma individual, foi utilizado o Analisador Automático de Sementes (SAD 9000-S). Este aparelho dispõe de uma bandeja com 100 alvéolos onde foram colocadas uma semente intacta por células em cinco mL de água destilada e deionizada, utilizando quatro bandejas por lote, totalizando 400 sementes para cada lote. A seguir, as bandejas foram colocadas em câmara tipo BOD, a temperatura constante de 20°C, e as leituras foram realizadas em seis períodos de imersão (1, 2, 3, 4, 8 e 24 horas), para cada lote de sementes. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1}$ de semente.

3.3 Análise estatística

Com os dados de condutividade elétrica das 400 sementes de cada um dos dez lotes e das seis leituras realizadas. Realizou-se um processo iterativo de reamostragem com 1000 reamostragens, com reposição, utilizando diferentes tamanhos de amostras (n), iniciando com uma semente e acrescentando uma semente em cada iteração até o tamanho máximo de 400 sementes. Obtendo assim 1000 médias de condutividade elétrica para cada um dos 400 tamanhos de amostras utilizados.

A partir desses dados de médias de condutividade elétrica estimaram-se as estatísticas: valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e valor máximo. A amplitude do intervalo de confiança de 95% foi determinada pela diferença entre o percentil 97,5% e o 2,5% e, representado graficamente (Apêndices A, B, C, D, E e F), sendo que no eixo das abscissas encontra-se o tamanho de amostra e no eixo das ordenadas as estatísticas descritivas das 1000 médias de condutividade elétrica individual em $\mu\text{S cm}^{-1}$ semente⁻¹ de trigo. Para melhor visualização dos dados nos gráficos, optou-se por plotar os dados de tamanho de amostra (n) em intervalos de cinco sementes, iniciando com n igual a cinco sementes. Utilizou-se o software R (R CORE TEAM, 2012) para simular as reamostragens e confecção dos gráficos.

Para a determinação do tamanho de amostra considerou-se o número de sementes a partir do qual a amplitude entre os quartis 2,5% e 97,5% passou a ser menor do que 1, 2, 3, 4 e 5 $\mu\text{S cm}^{-1}$ semente⁻¹. Assim, é possível que o pesquisador escolha a precisão que melhor se adapta a sua pesquisa e identificar o tamanho de amostra necessário para a estimação da média de condutividade elétrica individual de sementes de trigo.

3.4 Resultados e discussão

Aos dez lotes de sementes de trigo, foram aplicados testes de germinação e emergência em campo, para caracterização inicial da qualidade fisiológica das sementes. Os lotes, em que não foram aplicados o envelhecimento acelerado (1, 3, 5, 7 e 9), apresentaram variações na germinação, de 95,50% a 98,50%; para os demais lotes (2, 4, 6, 8 e 10), a germinação variou de 71,00% a 96,25%. Com relação à emergência em campo, a amplitude

de variação dos lotes sem envelhecimento, foi de 85,50% a 91,25%; para os demais lotes, de 42,50% a 70,00%.

As sementes dos lotes 1, 3, 5, 7 e 9, tiveram média, dos seis períodos de embebição (1 à 24h), da condutividade elétrica individual de $5,2 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$, enquanto que, os lotes em que foi aplicado o envelhecimento acelerado (2, 4, 6, 8 e 10), tiveram média de $9,3\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$ (Tabela 1). Considerando os períodos de embebição de 1 à 8h, os acréscimos na condutividade elétrica individual se comportam de maneira linear, com acréscimos de $0,77\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$ por hora de embebição para os lotes não envelhecidos ($\text{CEI} = 1,08 + 0,77 \times \text{Hora}$; $r^2 = 0,9855$), e de $1,51\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$ por hora de embebição, para os lotes envelhecidos ($\text{CEI} = 1,61 + 1,51 \times \text{Hora}$; $r^2 = 0,9682$).

Tabela 1 – Estatísticas descritivas dos valores de condutividade elétrica individual (CEI) em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{semente}^{-1}$ de seis lotes de sementes de trigo em nove períodos de embebição. Santa Maria, RS. 2013.

| CEI 1h | | | | | | | | | | |
|-------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Lote ¹ | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 |
| Mínimo | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1,0 | 0,0 | 1,0 | 4,0 | 2,0 |
| Média | 2,8 | 1,7 | 1,7 | 2,5 | 1,4 | 3,4 | 3,0 | 3,3 | 6,2 | 4,9 |
| Máximo | 11,0 | 13,0 | 7,0 | 9,0 | 3,0 | 9,0 | 8,0 | 9,0 | 13,0 | 11,0 |
| Desvio Padrão | 2,3 | 2,2 | 1,2 | 2,1 | 0,6 | 1,7 | 1,3 | 1,6 | 1,5 | 1,7 |
| CEI 2h | | | | | | | | | | |
| Mínimo | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1,0 | 0,0 | 1,0 | 1,0 | 2,0 |
| Média | 2,8 | 2,5 | 2,5 | 2,9 | 2,1 | 4,0 | 3,3 | 3,9 | 6,5 | 4,9 |
| Máximo | 9,0 | 21,0 | 9,0 | 9,0 | 5,0 | 10,0 | 9,0 | 9,0 | 15,0 | 11,0 |
| Desvio Padrão | 2,1 | 2,9 | 1,4 | 2,2 | 0,9 | 2,0 | 1,6 | 1,5 | 1,7 | 1,7 |
| CEI 3h | | | | | | | | | | |
| Mínimo | 2,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 2,0 | 0,0 | 2,0 | 4,0 | 2,0 |
| Média | 4,3 | 2,5 | 2,5 | 4,0 | 2,0 | 4,9 | 4,3 | 4,9 | 7,1 | 4,9 |
| Máximo | 10,0 | 21,0 | 9,0 | 11,0 | 5,0 | 11,0 | 11,0 | 10,0 | 17,0 | 11,0 |
| Desvio Padrão | 1,6 | 2,8 | 1,4 | 2,2 | 0,9 | 1,7 | 1,8 | 1,6 | 2,4 | 1,7 |
| CEI 4h | | | | | | | | | | |
| Mínimo | 2,0 | 0,0 | 0,0 | 1,0 | 0,0 | 4,0 | 3,0 | 3,0 | 3,0 | 1,0 |
| Média | 5,1 | 3,5 | 3,5 | 5,2 | 3,3 | 6,2 | 5,9 | 5,9 | 8,9 | 6,5 |
| Máximo | 15,0 | 18,0 | 12,0 | 13,0 | 8,0 | 13,0 | 13,0 | 10,0 | 17,0 | 15,0 |
| Desvio Padrão | 2,4 | 3,3 | 1,9 | 2,0 | 1,2 | 1,5 | 1,6 | 1,2 | 1,7 | 1,7 |
| CEI 8h | | | | | | | | | | |
| Mínimo | 6,0 | 0,0 | 1,0 | 3,0 | 2,0 | 10,0 | 9,0 | 10,0 | 12,0 | 7,0 |
| Média | 10,8 | 4,9 | 5,2 | 10,0 | 4,9 | 13,0 | 11,8 | 12,6 | 15,6 | 15,6 |
| Máximo | 20,0 | 35,0 | 13,0 | 17,0 | 13,0 | 22,0 | 17,0 | 20,0 | 26,0 | 29,0 |
| Desvio Padrão | 2,3 | 4,4 | 2,0 | 1,8 | 2,0 | 1,9 | 1,5 | 1,5 | 2,5 | 3,2 |

| | CEI 24h | | | | | | | | | |
|---------------|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Mínimo | 9,0 | 0,0 | 3,0 | 4,0 | 4,0 | 7,0 | 9,0 | 10,0 | 14,0 | 11,0 |
| Média | 11,5 | 10,9 | 9,2 | 11,6 | 7,5 | 15,6 | 13,1 | 13,8 | 20,4 | 17,9 |
| Máximo | 16,0 | 35,0 | 22,0 | 28,0 | 15,0 | 29,0 | 28,0 | 20,0 | 33,0 | 30,0 |
| Desvio Padrão | 1,4 | 4,8 | 2,8 | 2,2 | 2,1 | 3,2 | 1,9 | 1,6 | 3,8 | 3,6 |

¹Lotes de sementes de trigo: 1 Fundacep Horizonte, 2 Fundacep Horizonte submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 3 Quartzo, 4 Quartzo submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 5 Ônix, 6 Ônix submetida à metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 7 Mirante, 8 Mirante submetida à metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 9 Fundacep Campo Real, 10 Fundacep Campo Real submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas.

A variabilidade da condutividade elétrica individual, expressa pelo desvio padrão (Tabela 1), foi maior entre as sementes dos lotes 1, 3, 5, 7 e 9, que tiveram média de desvio padrão, dos seis períodos de embebição (1 à 24h), da condutividade elétrica individual de $2,1\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$, enquanto que, os lotes em que foi aplicado o envelhecimento acelerado (2, 4, 6, 8 e 10), tiveram média de desvio padrão de $1,7\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$. Portanto, para experimentos na área de sementes, em que se utilizem do envelhecimento acelerado para compor alguns tratamentos, deve-se ter especial atenção ao pressuposto de homogeneidade das variâncias de tratamentos para a variável condutividade elétrica individual, pois este pode não ser atendido. Lopes et al. (2005) também identificaram, na cultura do sorgo, que experimentos que se utilizam de tratamentos formados por diferentes densidades de plantas, proporcionam heterogeneidade de variâncias.

A média dos valores mínimos da condutividade elétrica individual das sementes de trigo, dos seis períodos de embebição, aumenta em quatro vezes dos lotes sem envelhecimento ($1,33\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$) para os lotes envelhecidos ($5,56\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$), e aumenta em apenas 9%, entre as médias de valores máximos dos lotes sem envelhecimento ($15,2\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$) para os lotes envelhecidos ($16,5\text{ S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$). Ou seja, o envelhecimento acelerado promoveu homogeneização das sementes, com as sementes mais vigorosas afetadas com maior intensidade, contrastando com a afirmação de Jianhua; McDonald (1996), de que sementes de menor qualidade deterioram-se mais rapidamente do que as mais vigorosas.

Os tamanho de amostra, em número de sementes de trigo, para amplitudes 1 a 5 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$, entre os percentis 2,5% e 97,5%, de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual em diferentes tempos de embebição dos lotes:

1, 3, 5, 7 e 9, sem envelhecimento, e dos lotes em que foi aplicado o envelhecimento acelerado: 2, 4, 6, 8 e 10, estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Tamanho de amostra, em número de sementes, para diferentes amplitudes entre os percentis 2,5% e 97,5% de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual de diferentes tempos de embebição de dez lotes de sementes de trigo. Santa Maria, RS. 2013.

| Lote ¹ | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 |
|-------------------|--|-----|-----|----|----|-----|----|----|-----|-----|
| Tempo | Amplitude de 1 $\mu\text{S cm}^{-1}$ semente ⁻¹ | | | | | | | | | |
| 1h | 84 | 81 | 22 | 73 | 6 | 45 | 26 | 37 | 37 | 50 |
| 2h | 70 | 145 | 27 | 85 | 13 | 61 | 45 | 33 | 43 | 47 |
| 3h | 38 | 125 | 34 | 79 | 13 | 53 | 54 | 42 | 88 | 46 |
| 4h | 93 | 176 | 53 | 61 | 24 | 33 | 40 | 22 | 43 | 42 |
| 8h | 85 | 315 | 60 | 47 | 65 | 55 | 33 | 35 | 106 | 176 |
| 24h | 29 | 395 | 126 | 70 | 69 | 162 | 61 | 35 | 248 | 209 |
| | Amplitude de 2 $\mu\text{S cm}^{-1}$ semente ⁻¹ | | | | | | | | | |
| 1h | 20 | 19 | 6 | 18 | 1 | 11 | 8 | 10 | 9 | 11 |
| 2h | 17 | 35 | 7 | 19 | 4 | 15 | 9 | 9 | 11 | 11 |
| 3h | 10 | 31 | 8 | 17 | 3 | 11 | 13 | 12 | 24 | 11 |
| 4h | 22 | 41 | 13 | 15 | 6 | 9 | 10 | 6 | 11 | 10 |
| 8h | 22 | 82 | 16 | 12 | 15 | 13 | 8 | 8 | 26 | 39 |
| 24h | 7 | 100 | 34 | 20 | 17 | 41 | 16 | 9 | 56 | 49 |
| | Amplitude de 3 $\mu\text{S cm}^{-1}$ semente ⁻¹ | | | | | | | | | |
| 1h | 8 | 8 | 3 | 4 | 1 | 5 | 3 | 5 | 3 | 5 |
| 2h | 8 | 15 | 4 | 8 | 2 | 7 | 5 | 4 | 5 | 5 |
| 3h | 4 | 13 | 3 | 9 | 1 | 5 | 6 | 4 | 10 | 6 |
| 4h | 10 | 18 | 6 | 7 | 2 | 4 | 4 | 3 | 5 | 5 |
| 8h | 10 | 33 | 7 | 6 | 8 | 6 | 4 | 4 | 11 | 17 |
| 24h | 3 | 44 | 14 | 8 | 7 | 16 | 8 | 4 | 27 | 22 |
| | Amplitude de 4 $\mu\text{S cm}^{-1}$ semente ⁻¹ | | | | | | | | | |
| 1h | 5 | 4 | 2 | 5 | 1 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 |
| 2h | 4 | 9 | 3 | 4 | 2 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 3h | 2 | 8 | 3 | 4 | 1 | 3 | 3 | 3 | 6 | 3 |
| 4h | 6 | 10 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 1 | 3 | 2 |
| 8h | 6 | 19 | 4 | 3 | 5 | 4 | 2 | 2 | 6 | 9 |
| 24h | 2 | 24 | 8 | 4 | 4 | 10 | 5 | 3 | 14 | 13 |
| | Amplitude de 5 $\mu\text{S cm}^{-1}$ semente ⁻¹ | | | | | | | | | |
| 1h | 3 | 3 | 1 | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 2h | 2 | 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 3h | 2 | 5 | 2 | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 | 4 | 2 |
| 4h | 4 | 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| 8h | 4 | 12 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 4 | 7 |
| 24h | 2 | 16 | 5 | 3 | 3 | 7 | 3 | 2 | 10 | 8 |

¹Lotes de sementes de trigo: 1 Fundacep Horizonte, 2 Fundacep Horizonte submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 3 Quartzo, 4 Quartzo submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 5 Ônix, 6 Ônix submetida à metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 7 Mirante, 8 Mirante submetida à metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas, 9 Fundacep Campo Real, 10 Fundacep Campo Real submetida a metodologia do envelhecimento acelerado à 42°C por 60 horas.

Para uma semiamplitude mínima de $1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$, do intervalo de confiança de 95% da média, o tamanho de amostra varia de 6 a 395 sementes para todos os lotes e tempos de embebição, sendo nesta maior precisão, também, a maior variabilidade encontrada no tamanho de amostra na comparação com as demais semiamplitudes (2 a $5 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$). Neste nível de precisão alto e considerando o Analisador Automático de Sementes (SAD 9000-S) utilizado, que possui uma bandeja com 100 alvéolos, seriam necessárias quatro bandejas para compor uma repetição de um tratamento.

No maior nível de precisão (amplitude de $1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$), o menor (6) e o maior (395) número de sementes de trigo estimados de tamanho de amostra estão dentro dos lotes: 1, 3, 5, 7 e 9, sem envelhecimento, ou seja, confirma-se que o envelhecimento acelerado proporciona homogeneidade aos lotes de sementes (2, 4, 6, 8 e 10), com estimativas de tamanho de amostra de menor variabilidade (22 a 248).

Para precisão de experimento menor, por exemplo, semiamplitude de $5 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$, do intervalo de confiança de 95% da média, o tamanho de amostra varia de 1 a 16 sementes para todos os lotes e tempos de embebição, sendo nesta precisão, a menor variabilidade encontrada no tamanho de amostra na comparação com as demais semiamplitudes (1 a $4 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$) (Tabela 2). Neste nível de precisão menor, o Analisador Automático de Sementes (SAD 9000-S) utilizado, poderia comportar numa bandeja (100 alvéolos), 6 tratamentos, formando um bloco, por exemplo.

Experimentos em campo requerem dimensionamento do número de repetições e tamanho de parcela para cada local e espécie a serem utilizados, em analogia, a estimativa do tamanho de amostra para determinação da condutividade elétrica individual de sementes também dependeria, principalmente, da espécie e, também, do equipamento. Com relação à espécie, Haesbaert (2013) encontrou estimativas de tamanho de amostra bem maiores para sementes de girassol do que foi encontrado neste estudo, para o trigo, como por exemplo, para $10 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$, o tamanho de amostra variou de 22 a mais de 400 sementes.

A maioria dos lotes (1 a 10) teve o tempo de embebição relacionado de forma direta com o tamanho de amostra, para todos os níveis de precisão estudados (1 a $5 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$) (Tabela 2), ou seja, aumentar o tempo de embebição da semente implica na necessidade de tamanhos de amostra maiores, maiores valores da condutividade elétrica individual das sementes e maior heterogeneidade.

Na Tabela 2, existem várias alternativas de tamanho de amostra para diferentes níveis de precisão e tempos de embebição da semente de trigo, para estimar a média da condutividade elétrica individual. De maneira geral, considerando uma precisão de $3 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{semente}^{-1}$,

$1.semente⁻¹, do intervalo de confiança de 95% da média, para todos os tempos de embebição (1 a 24 horas), poderia se recomendar dividir a bandeja de 100 alvéolos em 2 repetições de 50 sementes, considerando como critério, o maior valor de tamanho de amostra encontrado nessas condições, que foi de 44 sementes, no tempo de 24h do lote 3.$

3.5 Conclusões

A amostragem, em número de sementes de trigo, para avaliar a condutividade elétrica individual é de 44 sementes, para lotes em que não foram aplicados o envelhecimento acelerado, é de 27 sementes, para lotes envelhecidos artificialmente, para amplitudes de 3 a 5 $\mu\text{S cm}^{-1}$ semente⁻¹, para tempos de embebição das sementes de uma a 24 horas.

3.6 Referências

ARTOLA, A.; CARRILLO-CASTAÑEDA, G. The bulk conductivity test for birdsfoot trefoil seed. **Seed Science and Technology**, v. 33, p. 231-236, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS – AOSA. **Seed vigour testing handbook**. East Lansing: AOSA, 1993. 93p. (Contribution, 32).

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln: AOSA, 2002. 105p. Contribution, 32.

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

BELASQUE JÚNIOR, J. et al. Tamanho da amostra para quantificação do diâmetro de lesões de cancro cítrico. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 04, p. 317-322, 2008.

CARGNELUTTI FILHO, A. et al. Tamanho de amostra de caracteres de cultivares de feijão. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 635-642, 2008.

CARGNELUTTI FILHO, A. et al. Tamanho de amostra de caracteres em híbridos de mamoneira. **Ciência Rural**, v. 40, n. 2, p. 280-287, 2010.

CARGNELUTTI FILHO, A.; STORCK, L.; RIBEIRO, N.D. Medidas da precisão experimental em ensaios com genótipos de feijão e de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 1225-1231, 2009.

CATAPATTI, T. R. et al. Tamanho de amostra e número de repetições para avaliação de caracteres agrônômicos em milho-pipoca. **Ciência e agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 855-862, 2008.

CORE TEAM. R. **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>. (2012).

COSTA, G. G. O. **Um procedimento inferencial para análise fatorial utilizando as técnicas bootstrap e jackknife**: construção de intervalos de confiança e testes de hipóteses. 2006. 196f. Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2006.

DESAI, B. B.; KOTECHA, P. M.; SALUNKHE, D. K. **Seeds handbook Biology, Production, Processing and Storage**. 1 ed. New York: Basel, 1997, 627p.

EFRON, B. Bayes and likelihood calculations from confidence intervals. **Biometrika**, v. 80, n. 1, p. 03–26, 1993.

EFRON, B.; TIBSHIRANI, R. J. **An Introduction to the bootstrap**. New York: Chapman & Hall, 1993. 436p.

FERREIRA, D. F. **Estatística básica**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2009. 664p.

FICK, G. L.; HIBBARD, R. P. A method for determining seed viability by electrical conductivity measurements. **Michigan Academy Science Arts and Letters**, Ann Arbor, v. 5, p. 95-103, 1925.

FREITAS, J. A. et al. Tamanho de amostra na parcela para caracterização da altura de plantas de algodoeiro herbáceo *Gossypium hirsutum*. **Ciência Rural**, v. 31, n. 04, p. 583- 587, 2001.

GASPAR, C. M.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em função do número de sementes e da quantidade de água para sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 2, p. 82-89, 2002.

HAEBERT, F. M. **Análise de vigor de sementes de girassol**. 2013. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria: 2013.

KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218.

LEITE, G. H. P. et al. Qualidade tecnológica da cana-de-açúcar em função da aplicação de maturadores em meio de safra. **Bragantia**, v. 68, n. 2, p. 527-534, 2009.

LOPES, M. V. et al. Dimensionamento de amostras para monitoramento do ácaro da leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) em citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 03, p. 671-676, 2007.

LOPES, S. J. et al. Tamanho de parcela para produtividade de grãos de sorgo granífero em diferentes densidades de plantas. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 40, n. 6, p. 525-530, jun. 2005

LÚCIO, A. D. et al. Distribuição espacial e tamanho de amostra para o ácaro-do-bronzeado da erva-mate. **Revista Árvore**, v. 33, n. 1, p. 143-150, 2009.

MANLY, B. F. J. **Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in biology**. 2. ed. New York: Chapman & Hall, 1997. 399p.

MARCHI, J. L.; CÍCERO, S. M. Procedimentos para a condução do teste de condutividade elétrica em sementes. **Informativo ABRATES**, v. 12, n. 1, 2, 3, p. 20-27, 2002.

MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S. M. & SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade fisiológica das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p

MATTHEWS, S.; POWELL, A. A. Electrical conductivity test. In: PERRY, D. A., (ed.) **Handbook of vigor test methods**. Zürich: ISTA, 1981. p. 37-42.

MENEZES, V. O. **Inoculação de Fusarium moniliforme (Sheld.) em sementes de duas cultivares de pepino através da técnica da restrição hídrica e sua influência sobre a qualidade fisiológica**. 2009. 85f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria: 2009.

MOURÃO JR, C. A. Questões em bioestatística: o tamanho da amostra. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, v. 1, n. 1, p. 26 - 28, 2009.

NUNES, G. H. de S. et al. Tamanho amostral para estimar o teor de sólidos solúveis totais em talhões de melão amarelo. **Caatinga**, v. 19, n. 2, p. 117-122, 2006.

PERRY, D. A. Introduction, methodology and application of vigour test, seedling growth and evaluation teste. In: PERRY, D. A. (Ed.) **Handbook of vigour teste methods**. Zurich, International Seed Testing Association. p. 3-20, 1981.

ROZANE, D. E., V. BRUGNARA, H.A. SOUZA & D.A. AMORIM. 2009. Condução arquitetura e poda da goiabeira para ‘mesa’ e/ou ‘indústria’. In: NATALE, W., ROZANE, D. E. SOUZA, H. A. & AMORIM, D. A. (ed). **Cultura da Goiabeira do Plantio a Comercialização**. FCAV/UNESP/Capes/CNPq/FAPESP/Fundunesp & SBF, Jaboticabal (SP): p. 407-428, 2009.

SÁ, M. E. Condutividade elétrica em sementes de tomate (*Lycopersicon lycopersicum* L.). **Scientia Agrícola**, v. 56, n. 1, p. 13-19, 1999.

SILVA GO; VIEIRA JV; VILLELA MS. 2009. Tamanho de amostra para avaliação de caracteres de cenoura em sistemas de cultivo agroecológico. **Horticultura Brasileira**, 27: 166-170.

SILVA, P. S. L. et al. Métodos de amostragem e tamanho da amostra para alguns caracteres do milho. **Ciência Agrônômica**, v. 4, n. 1, p. 05-10, 1993.

STEERE, W. C.; LEVENGOOD, W. C.; BONDIE, J. M. An electronic analyser for evaluating seed germination and vigor. **Seed Science and Technology**, v. 9, n. 2, p. 567-576, 1981.

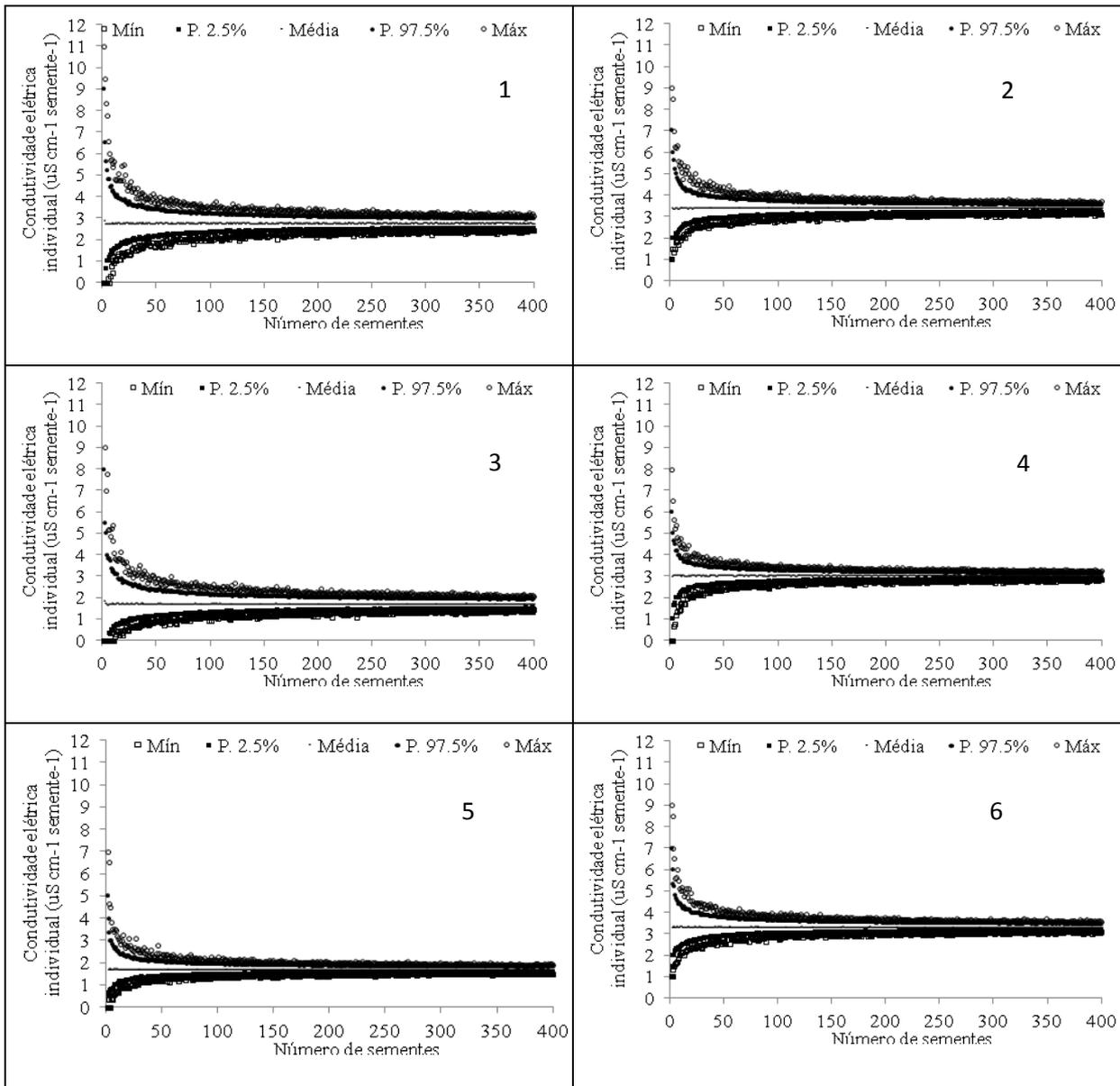
STORCK, L. et al. Sample size for single, double and three-way hybrid corn ear traits. **Scientia Agrícola**, v. 64, p. 30-35, 2007.

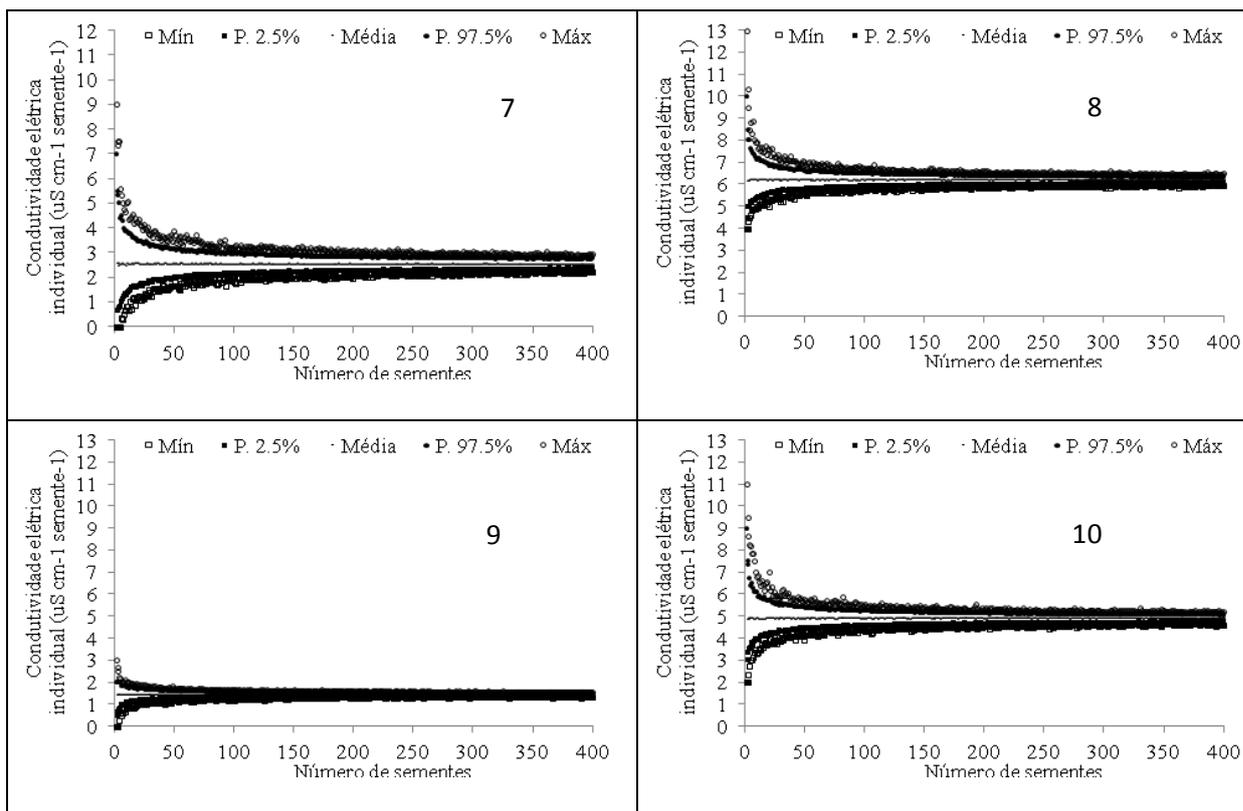
VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (ed.) **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 103-132.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Eds.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999, p.1-26.

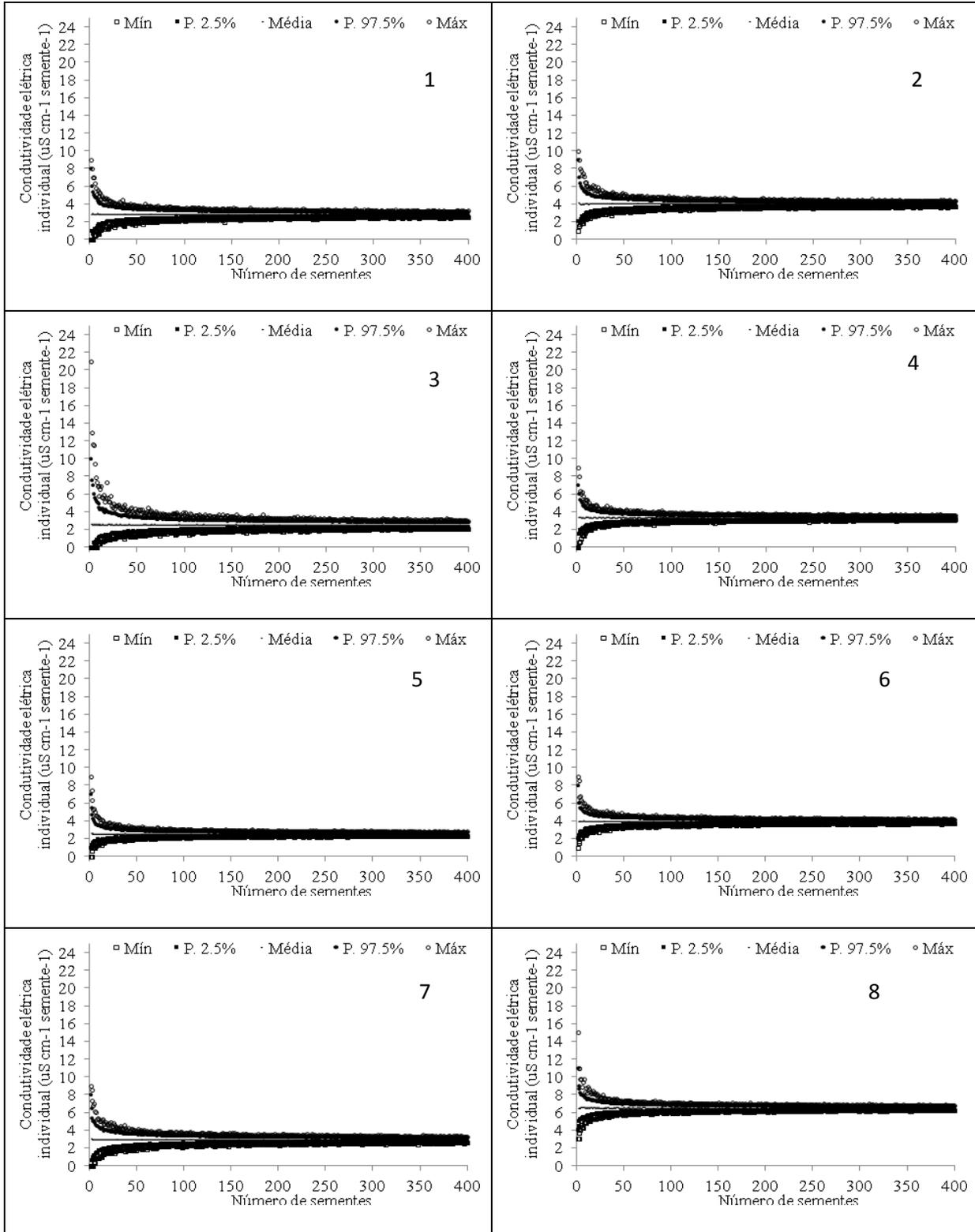
3.7 Apêndices

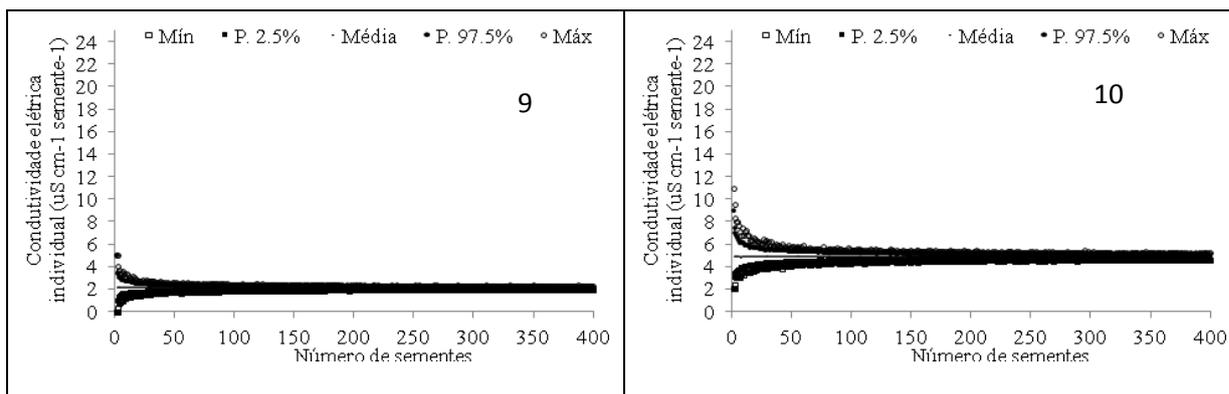
APÊNDICE A – Representação gráfica das estatísticas valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e máximo de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual de diferentes tamanhos de amostra em número de sementes (n) em 1 hora de embebição de dez lotes de sementes de trigo (1 - 10). Santa Maria, RS. 2013.



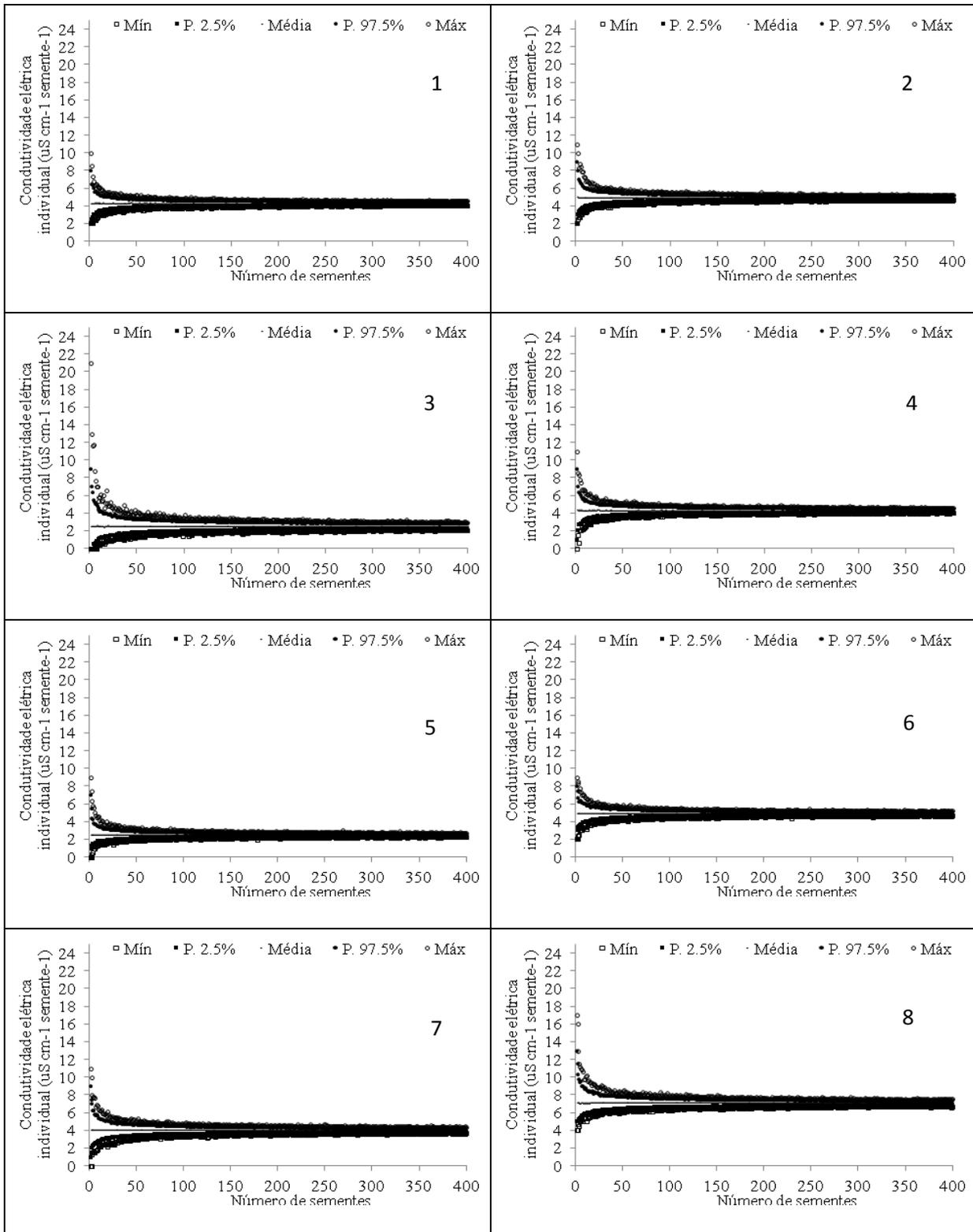


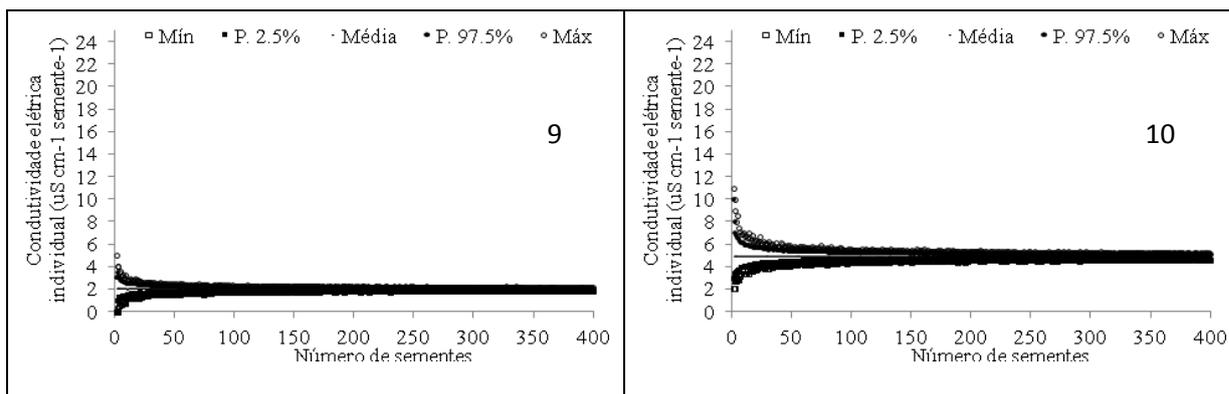
APÊNDICE B – Representação gráfica das estatísticas valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e máximo de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual de diferentes tamanhos de amostra em número de sementes (n) em 2 hora de embebição de dez lotes de sementes de trigo (1 - 10). Santa Maria, RS. 2013.



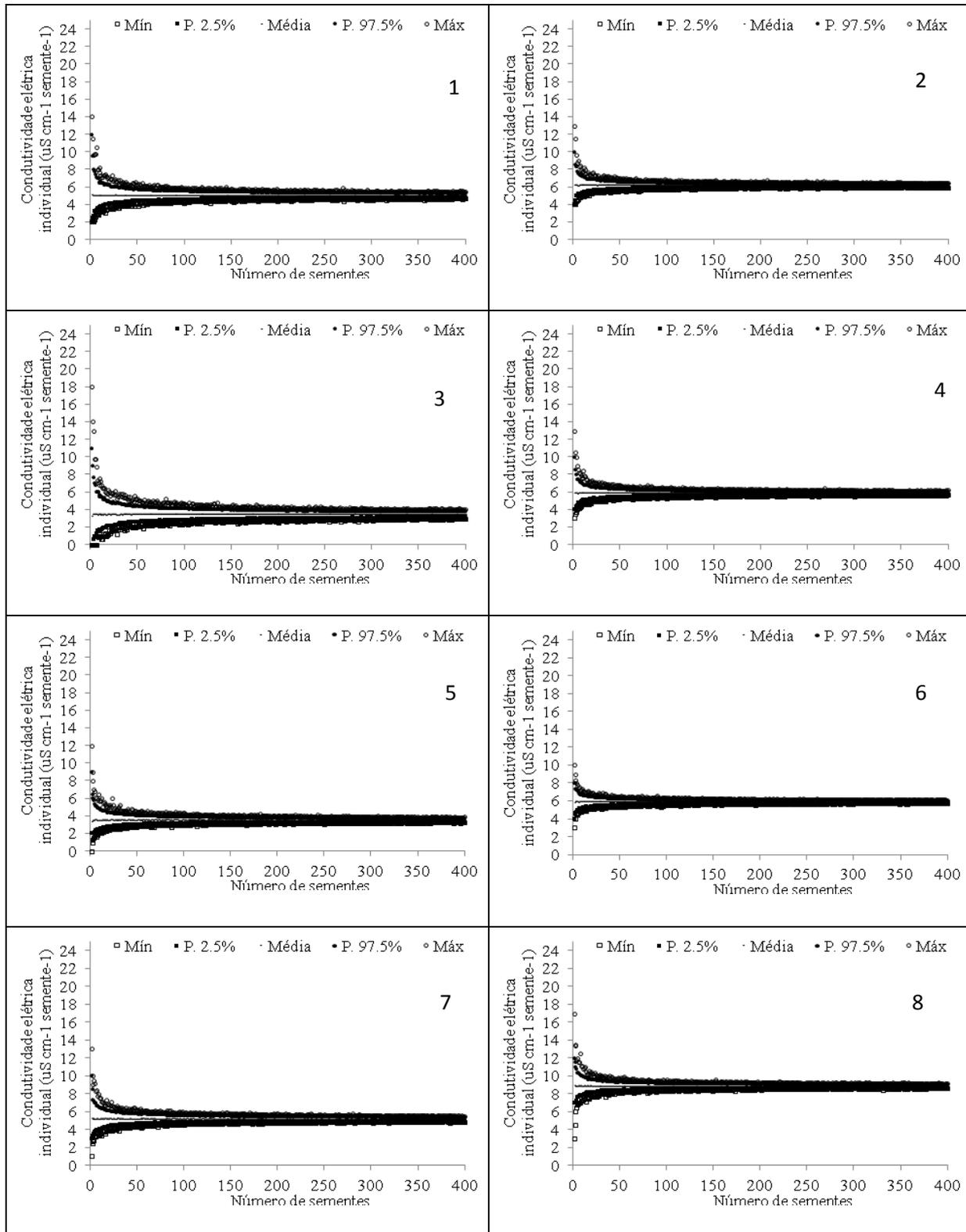


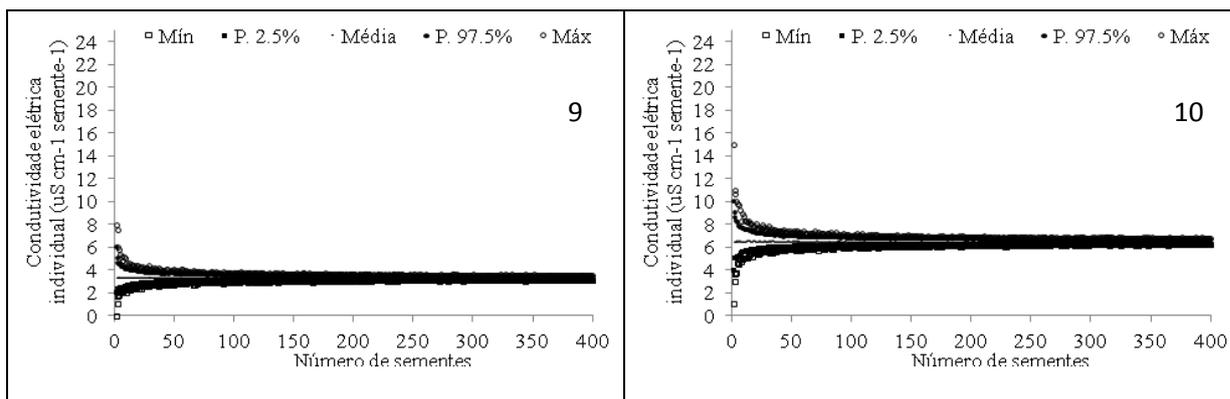
APÊNDICE C – Representação gráfica das estatísticas valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e máximo de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual de diferentes tamanhos de amostra em número de sementes (n) em 3 hora de embebição de dez lotes de sementes de trigo (1 - 10). Santa Maria, RS. 2013.



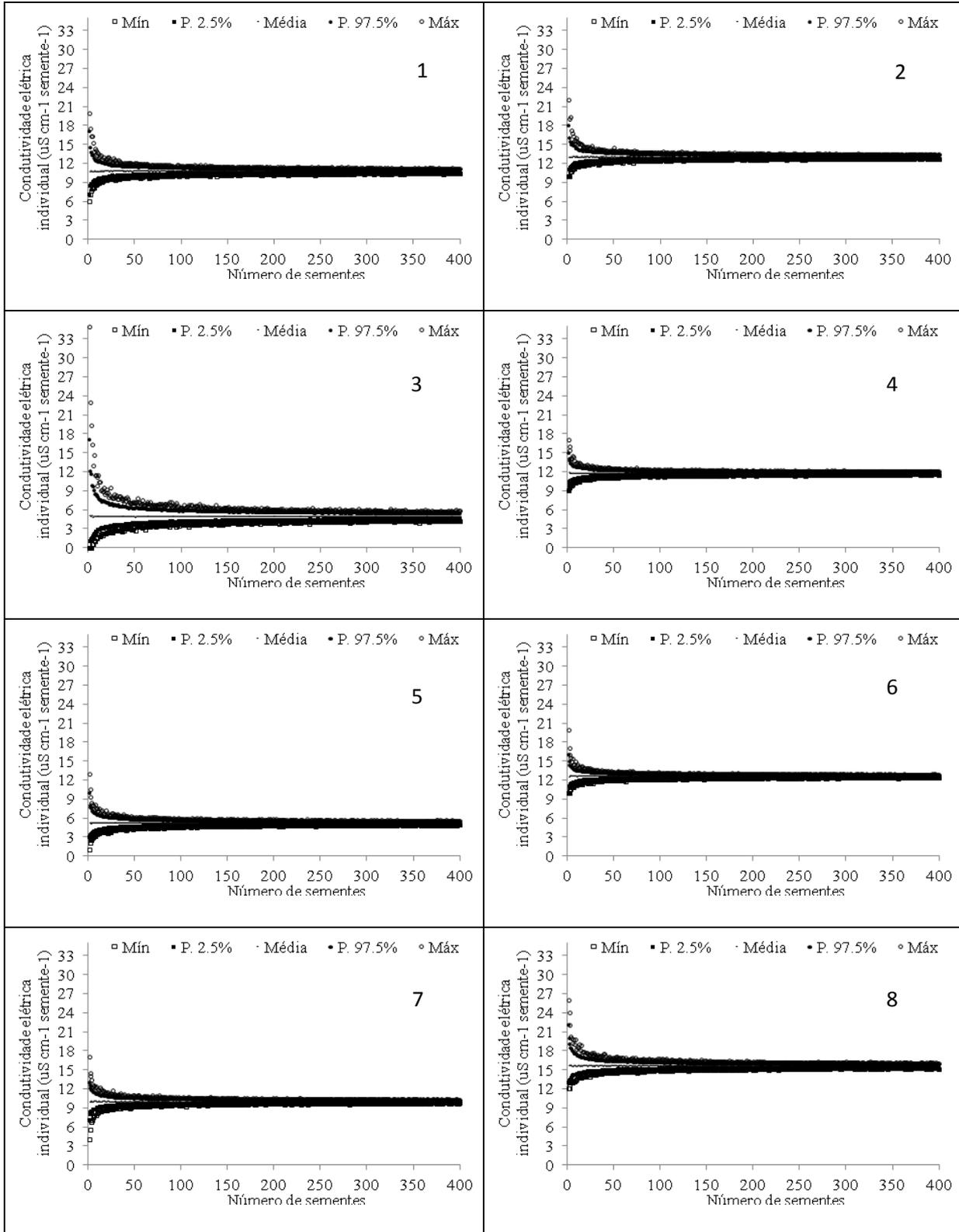


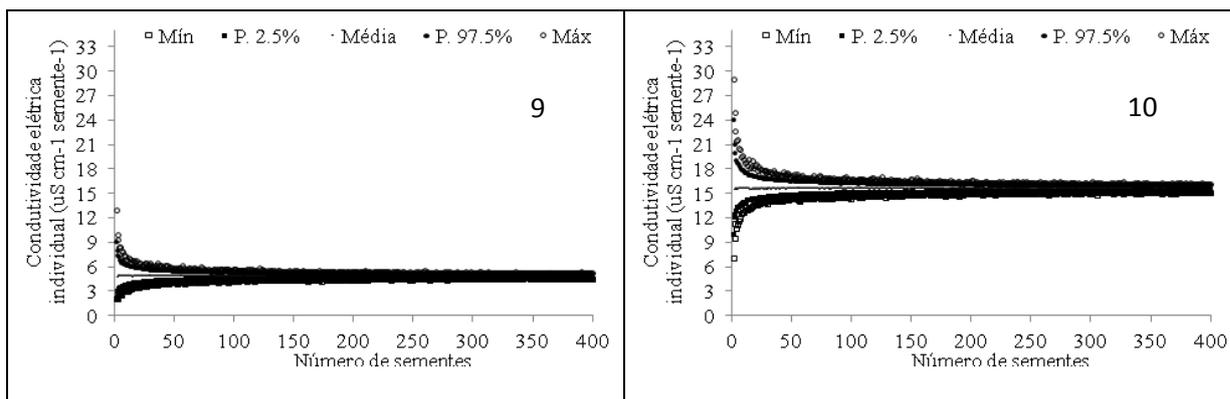
APÊNDICE D – Representação gráfica das estatísticas valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e máximo de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual de diferentes tamanhos de amostra em número de sementes (n) em 4 hora de embebição de dez lotes de sementes de trigo (1 - 10). Santa Maria, RS. 2013.





APÊNDICE E – Representação gráfica das estatísticas valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e máximo de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica individual de diferentes tamanhos de amostra em número de sementes (n) em 8 hora de embebição de dez lotes de sementes de trigo (1 - 10). Santa Maria, RS. 2013.





APÊNDICE F – Representação gráfica das estatísticas valor mínimo, percentil 2,5%, média, percentil 97,5% e máximo de 1.000 reamostragens para estimativas da média de condutividade elétrica **individual** de diferentes tamanhos de amostra em número de sementes (n) em 24 hora de embebição de dez lotes de sementes de trigo (1 - 10). Santa Maria, RS. 2013.

