

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TESTES DE VIGOR EM SEMENTES DE MILHO**

**Willyder Leandro Rocha Peres**

Engenheiro Agrônomo

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL**  
**Fevereiro de 2010**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TESTES DE VIGOR EM SEMENTES DE MILHO**

**Willyder Leandro Rocha Peres**

**Orientador: Prof. Dr. Nelson Moreira de Carvalho**

**Co-Orientador: Prof. Dr. Silvio Moure Cícero**

**Co-Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Gisele Herbst Vazquez**

**Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, para a obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Produção e Tecnologia de Sementes.**

**JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL**  
**Fevereiro de 2010**

Peres, Willyder Leandro Rocha  
P437t      Testes de vigor em sementes de milho / Willyder Leandro Rocha  
Peres. -- Jaboticabal, 2010  
iv, 50 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010

Orientador: Nelson Moreira de Carvalho

Banca examinadora: João Nakagawa, Rubens Sader

Bibliografia

1. *Zea mays*. 2. Deterioração controlada. 3. Qualidade fisiológica. 4 Germinação. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.531: 633.15

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –  
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**Willyder Leandro Rocha Peres** - nascido em 16 de dezembro de 1978 em João Pinheiro – Minas Gerais. É Engenheiro Agrônomo formado em setembro de 2006 pela Universidade Federal do Tocantins – Campus de Gurupi – Tocantins. Credenciado junto ao Conselho Regional de Engenharia, Arquitetura e Agronomia de Minas Gerais sob o Número de Registro Profissional MG 104516/D, Professor da Faculdade de Cidade de João Pinheiro nos Cursos de Biomedicina e Enfermagem, Coordenador do Curso Técnico em Açúcar e Alcool do Centro Educacional Visão/Sistema Positivo de Ensino e Proprietário da Empresa BIOTEC – Tecnologia em Engenharia e Agronegócio, Em março de 2007, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção e Tecnologia de Sementes, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP - Campus de Jaboticabal.

*"A semente é o insumo mais nobre da Agricultura, é o organismo vivo, é depositária, direta ou indiretamente, de praticamente todos os avanços tecnológicos conquistados pelos pesquisadores, é um eficiente meio de disseminação de tecnologia, garantindo qualidade e produtividade, que beneficia os elos da cadeia, a indústria e os consumidores".*

**Ywao Miyamoto.**

***Aos Meus Pais,***

Que me ensinaram o valor da garra, humildade, trabalho, honestidade e independência onde o caráter, saúde e conhecimento são minhas maiores riquezas.

***Aos Meus Avós***

Joaquim (*in memorian*), Ana (*in memorian*), Newton (*in memorian*) e Bezinha, pelos momentos inesquecíveis de meu crescimento, que terei no coração por toda minha Eternidade.

***Aos Meus Padrinhos***

Vicente, Carmelita e Newton com suas famílias, obrigado por fazerem parte deste sonho...

*Dedico...*

## AGRADECIMENTOS

*A ELE* que me fortalece e guia meu caminho com a Boa Sorte e a Luz Divina, tornando felizes meus sonhos, objetivos e conquistas, justificando minha Fé e fortalecendo meu viver.

*A* Bruna que se mostrou companheira, cúmplice e esteio em minha vida. Confortando-me com seu carinho e me presenteando com seu amor, tornando todos os momentos de minha vida, mágicos e maravilhosos.

*Aos* meus Irmãos Kellyane, Wesley e Wellyngton por me mostrarem a posição e importância da fraternidade.

*Aos* meus Amigos Jarbas, Helder e Renato pelas palavras e por nossa vida de grandes acontecimentos onde tiramos sempre a melhor lição dia após dia num crescimento conjunto e contínuo, sempre lembrando o valor da amizade.

*Ao* meu Professor e Orientador Nelson Moreira de Carvalho por demonstrar que a competência é estabelecida e a organização é o fator primordial para o sucesso e que a paciência precede a sabedoria no julgamento do semelhante.

*A* todos do Departamento de Sementes e meus Co-orientadores que durante toda minha jornada foram determinantes para que este meu objetivo se findasse com honra em especial ao Sr. Lázaro (Gabi).

## SUMÁRIO

### Página

|                                                                 |            |
|-----------------------------------------------------------------|------------|
| <b>RESUMO.....</b>                                              | <b>iii</b> |
| <b>SUMMARY.....</b>                                             | <b>iv</b>  |
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>                                       | <b>01</b>  |
| <b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                            | <b>05</b>  |
| 2.1 Qualidade e Potencial Fisiológico de Sementes.....          | 05         |
| 2.2 Análise de Sementes e vigor como critério de qualidade..... | 05         |
| 2.3 Testes de Vigor de Sementes.....                            | 10         |
| 2.3.1 Emergência em campo de sementes de milho.....             | 18         |
| <b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                               | <b>21</b>  |
| 3.1 Análises Laboratoriais.....                                 | 21         |
| 3.1.1 Teor de Água da Semente.....                              | 21         |
| 3.1.2 Teste de Germinação.....                                  | 22         |
| 3.1.3 Primeira Contagem de Germinação.....                      | 22         |
| 3.1.4 Teste de Envelhecimento Acelerado a 96 horas/42 °C.....   | 22         |
| 3.1.5 Teste de Envelhecimento Acelerado a 120 horas/42 °C.....  | 23         |
| 3.1.6 Teste de Frio.....                                        | 23         |
| 3.1.7 Teste de Condutividade Elétrica.....                      | 23         |
| 3.1.8 Massa Seca de Plântulas (ISTA).....                       | 24         |
| 3.1.9 Comprimento de Plântulas (ISTA).....                      | 25         |
| 3.1.10 Comprimento de Plântulas (ABRATES).....                  | 26         |
| 3.2 Avaliações de Campo.....                                    | 28         |

|           |                                                      |           |
|-----------|------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2.1     | Teste de Emergência de Plântula em Campo.....        | 28        |
| 3.2.2     | Características das Regiões dos testes de campo..... | 29        |
| 3.2.2.1   | Jaboticabal SP.....                                  | 29        |
| 3.2.2.2   | Piracicaba SP.....                                   | 29        |
| 3.2.2.3   | Fernandópolis SP.....                                | 30        |
| 3.3       | Análises Estatísticas .....                          | 30        |
| <b>4.</b> | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                   | <b>31</b> |
| <b>5.</b> | <b>CONCLUSÃO.....</b>                                | <b>46</b> |
| <b>6.</b> | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                              | <b>47</b> |

## TESTES DE VIGOR EM SEMENTES DE MILHO

**Resumo** - Essa pesquisa teve como objetivo comparar e avaliar os testes de germinação padrão em areia (G), primeira contagem de germinação (PC), envelhecimento acelerado a 96 horas (EA 96), envelhecimento acelerado a 120 horas (EA 120), teste de frio (TF) teste de massa seca de plântulas (MS), teste de comprimento de plântulas pelos métodos da ISTA e ABRATES, emergência em campo (EC) em três locais diferentes: Jaboticabal, Piracicaba, Fernandópolis e a Condutividade elétrica (CE) na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho híbrido, onde o Experimento foi conduzido utilizando-se nove lotes dessa semente. Na primeira fase do trabalho foram realizados os testes de germinação, primeira contagem de germinação, emergência de plântula em campo, índice de velocidade de germinação, condutividade elétrica, teste de frio e uma variação do teste de envelhecimento acelerado (tempos de armazenamento na estufa de 96 e 120 horas a 42 °C). Na segunda fase foram feitas avaliações quanto à quantificação das plântulas normais e anormais nos testes realizados valorizando comprimento e massa dos lotes analisados. De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que os testes de frio, envelhecimento acelerado a 42 °C e tempo de armazenamento na estufa de 96 horas e o teste de condutividade elétrica foram os testes mais indicados para determinação da qualidade fisiológica das sementes de milho híbrido. Os testes de massa seca de plântulas necessitam de estudos mais específicos pelas variações apresentadas, e assim uma melhor adequação do método para facilitar e padronizar a sua utilização em sementes de milho.

**Palavras-chaves:** *Zea mays*, deterioração controlada, qualidade fisiológica, germinação.

## VIGOR TESTS FOR CORN SEEDS

**SUMMARY –** The objective of this work was to compare the standard germination and several vigor ( first count, accelerated aging, electrical conductivity, cold, seedling dry matter weight, seedling length ) tests to the field performance of nine corn seed lots in in three locations in the state of São Paulo, Brazil. These locations were Jaboticabal, Fernandópolis, and Piracicaba. The results showed the cold, accelerated aging, and the electrical conductivity were the best vigor tests to evaluate the performance of corn seed lots in the field. The seedling dry matter content tests showed very variable results and thus in need of further studies.

**Keywords -** *Zea mays*, seed deterioration, physiological quality, germination

## 1 INTRODUÇÃO

Quando falamos de testes de avaliação da qualidade fisiológica de sementes para fins de semeadura e comercialização podemos nos concentrar no teste de germinação, que por ser realizado em condições ideais e artificiais, permite a obtenção da porcentagem máxima de germinação.

A identificação de testes de vigor que dêem uma margem segura quanto ao comportamento das sementes em campo vem sendo uma busca incessante e uma necessidade visto que, as condições adversas impõem uma desuniformidade entre o teste padrão de germinação e os resultados de campo, estabelecendo-se uma necessidade de identificar um teste que de condições equiparadas de germinação em campo, com todas as adversidades que possam afetar seu desempenho.

O impulso à pesquisa em tecnologia de sementes é marcante, predominando a execução de projetos dirigidos aos métodos para a avaliação do vigor e de suas relações com o desempenho das sementes e para a identificação das causas determinantes desse comportamento, principalmente quando se trata da situação da semente no campo.

Variados testes de vigor estão sendo analisados continuamente, procurando comparar, com precisão, o comportamento de lotes de sementes em laboratório e no campo, por exemplo, o teste de frio para milho (Cícero & Vieira, 1994), o teste de envelhecimento acelerado para soja (Vieira et al., 1994) e o teste de condutividade elétrica para ervilha (Marcos Filho, 1990), com objetivo de se estabelecer uma relação mais correlativa entre as duas situações listadas de condição favorável e condição adversa para a germinação da semente.

Historicamente os testes de vigor tiveram início com o desenvolvimento do teste padrão de germinação, conforme relatou Carvalho (1994). Ainda segundo este autor, Notbbe estabeleceu, em 1869, o primeiro laboratório de análise de sementes em Tharandt/Alemanha; em 1876, ocorreu o mesmo em

Connecticut/EUA. Durante vários anos, a avaliação da qualidade fisiológica foi efetuada apenas através do teste padrão de germinação; apenas nos anos 40 o teste de tetrazólio foi desenvolvido por Lakon, na Alemanha (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

De acordo com o relato de vários pesquisadores, a introdução do termo vigor foi, primeiramente, atribuída a Nobbe, em 1876, que utilizou a palavra “triebkraft”, com significado de “força motriz” ou “energia de crescimento”, ao discorrer sobre o processo de germinação, no tratado Handbuch der Samenkund (Association of Official Seed Analysts, 1983), que é citado por Krzyzanowski et al., (1999).

Podemos nos localizar historicamente com a tentativa de instalação dos testes de condutividade elétrica proposta por Fick e Hibbard (1925), o teste de velocidade de germinação proposta por Stahl (1931; 19360) e o teste de frio criado entre 1930 e 1935 por Reddy e aprimorados por Tatum e Zuber entre 1942 e 1943 como comenta Krzyzanowski et al., (1999).

Em 1950 o pesquisador W.J.Franck apresentou uma proposta para que os testes conduzidos em substratos artificiais e condições ótimas fossem denominados testes de germinação e que seus resultados fossem oficializados como parâmetros balizadores dos padrões de sementes para comercialização (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

Da mesma forma, os testes conduzidos em solo ou relacionados à percentagem de emergência das plântulas em solo deveriam ser chamados testes de vigor (FRANCK, 1950).

Algumas considerações foram feitas a respeito do comentado acima, como o porque desse objetivo poder ser considerado, nos dias de hoje, como uma combinação de alto grau de otimismo e certa ingenuidade (McDONALD,1993), as conseqüências positivas da iniciativa de Franck são inquestionáveis e trouxeram uma linha de ação para o processo de desenvolvimento das linhas de trabalho com relação a viabilidade da semente.

As concentração de esforços no sentido de otimizar e alinhar os inúmeros métodos para a avaliação do vigor em laboratório, com tentativas de reproduzir situações verificadas em campo, após a semeadura, ou de estudar características fisiológicas das sementes relacionadas ao seu desempenho em campo e durante o armazenamento é então objetivo desde muito avaliado e que levanta questionamentos sobre a predição da qualidade fisiológica da semente, no caso o milho e a determinação de qual melhor método de avaliação.

Krzyzanowski et al., (1999), relata em seus estudos que a evolução do interesse dos tecnologistas e produtores de sementes, bem como dos agricultores, e acrescenta-se as empresas que hoje são as detentoras dos principais questionamentos sobre o assunto também merece destaque; a divulgação das idéias sobre as relações entre o vigor e os mais variados aspectos do desempenho das sementes tornou-se o tema preponderante em reuniões técnico-científicas e acelerou a pressão da demanda por conhecimentos sobre o assunto.

No esforço para se determinar as respostas para as principais dúvidas referentes ao desempenho das sementes, passaram a ser atribuídas exclusivamente ao “alto” ou ao “baixo vigor”. Assim, o vigor tornou-se a principal justificativa para o sucesso ou o fracasso do estabelecimento do estande em campo (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

Segundo Carvalho (1986), apesar de diversos estudos que buscam a padronização dos teste de vigor, são encontradas certas dificuldades em função de que o vigor pode ser refletido através de várias características como velocidade de germinação, uniformidade de emergência, resistência ao frio, temperatura e umidade elevadas, substâncias tóxicas entre outros. Diante disto, deve-se ressaltar a importância da realização de um conjunto de testes que responda a estas características.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a precisão de diferentes testes para determinação da qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.), procurando obter informações que possam indicar opções para uma melhor

utilização desses testes no controle de qualidade, bem como, verificar suas relações com a emergência das plântulas em campo.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Qualidade e Potencial Fisiológico de Sementes**

Pelo seu papel na história da humanidade e papel na cadeia agrícola, a semente se apresenta como um insumo indispensável, desempenhando importante papel para o aumento quantitativo e qualitativo de produtividade, portanto, a utilização de sementes de alta qualidade é um fator preponderante para o sucesso de qualquer cultura (GASPAR & NAKAGAWA, 2002).

Os procedimentos adotados em um programa de controle de qualidade baseiam-se tanto em conhecimentos prévios sobre as recomendações provenientes da pesquisa e/ou da experiência prática, como no levantamento de dados que permitam a detecção de problemas e a proposição de soluções adequadas (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

Com a intensificação dos processos produtivos e conseqüentemente o aumento da demanda por sementes de alta qualidade, tem levado as empresas do setor a procurarem aprimoramento técnico de suas atividades, visando, basicamente, ao aumento de produtividade associado a um incremento da qualidade do produto.

Em atendimento a essa demanda, a tecnologia de sementes, dentro do contexto da produção agrícola, tem procurado aprimorar os testes de germinação e vigor, com o objetivo de que os resultados das análises expressem um comportamento mais real das sementes, quando semeadas em campo. Nesse sentido, destacam-se os estudos relativos aos testes para avaliação do vigor de sementes.

Nos EUA e no Canadá, tem-se verificado aumento significativo no interesse e no uso dos teste de vigor, dentro dos laboratórios de análise de sementes, sendo que no período de 1976 a 1990, o teste de condutividade elétrica que, no início, não era mencionado, já parecia a partir de 1982 (Tekrony, 1983;

Ferguson, 1993). Esse teste, juntamente com os testes de envelhecimento acelerado e de frio, foi objetivo de estudo pelo comitê de vigor da AOSA, período 1983-1991, como os três testes de vigor mais promissores (McDonald, 1993). Hampton (1992), pesquisando o uso de testes de vigor entre laboratórios membros da ISTA, refere-se ao teste de condutividade elétrica com um teste recomendado para avaliar o vigor de sementes de ervilha na Europa e na Nova Zelândia. Esse teste e o teste de envelhecimento acelerado aparecem como os dois únicos testes de vigor recomendados pelo comitê de vigor da ISTA (HAMPTON & TEKRONY, 1995).

No Brasil, Krzyzanowski et al.(1991), fazendo avaliação da situação do uso de testes de vigor como rotina entre laboratórios de análise de sementes, concluíram que, apesar de fundamental, esses testes têm muito o que evoluir, de modo a participarem efetivamente, nos programas de controle de qualidade da indústria de semente. No caso particular do teste de condutividade elétrica, pode-se dizer que o seu uso ainda é muito restrito a determinadas situações, em especial àquelas relacionadas diretamente à pesquisa.

## **2.2 Análise de Sementes e Vigor como critério de qualidade**

Segundo ABRATES (1999), existem três critérios de qualidade que são a germinação, a pureza e a sanidade, e que podem ser determinados por análise cotidiana em laboratórios de sementes. Estes parâmetros são de grande importância para avaliar a qualidade das sementes no mercado, porém não são aceitos como os mais eficientes.

A sementes de milho que são acondicionadas em lotes após serem aprovadas pelas análises devem, além de apresentarem elevada qualidade, manifestar alta capacidade de emergência a campo, o que, entretanto, pode não ocorrer.

Identificamos então o vigor da semente como um quarto critério de qualidade, principalmente, no que se refere, ao comportamento no campo.

A expressão vigor das sementes foi utilizada durante muitos anos, mas somente nas últimas duas décadas se reconheceu como um fator definível de qualidade e se compreendeu seus efeitos sobre o comportamento e emergência da semente a campo.

A análise de sementes é uma ferramenta muito útil para a obtenção de dados do controle de qualidade, principalmente a partir do final do período de maturação, segundo a Abrates (1999).

Sendo assim a seleção dos testes de vigor deve atender a objetivos específicos, sendo importante a identificação das características avaliadas pelo teste e sua relação com o comportamento das sementes diante de situações específicas como, por exemplo, o desempenho após a secagem, o potencial de armazenamento, a resposta a injúrias mecânicas e as condições climáticas.

A abertura de novas fronteiras agrícolas e em conseqüência o aumento da produção de sementes no Brasil, nos últimos anos, tem levado as empresas produtoras a buscarem um aprimoramento técnico de suas atividades, o que visa, basicamente, o aumento de produtividade associado a um incremento na qualidade do produto colhido. Assim, a tecnologia de sementes, como um segmento do processo de produção, tem procurado aprimorar os testes de germinação e vigor com objetivo de que os resultados expressem a real qualidade fisiológica de um determinado lote de sementes (VIEIRA, 1994).

Tanto a ISTA como a AOSA adotam o procedimento de avaliar a metodologia mais adequada para a inclusão nas Regras para Análise de Sementes, através de testes de aferição realizados em diferentes laboratórios, sob a coordenação de comitês específicos onde são avaliados a pureza, germinação, teor de umidade entre outras (ABRATES, 1999).

Para tanto, um determinado número de amostras é enviado aos laboratórios participantes do programa, acompanhado por instruções que devem ser fielmente seguidas pelos analistas. A coordenação do Comitê, de posse dos resultados,

efetua sua interpretação, verificando a compatibilidade entre os laboratórios, detectando problemas, diagnosticando a situação e programando novas etapas de testes, até que o nível de padronização atinja um nível satisfatório e permita a recomendação da metodologia.

Ocorre um criterioso processo de padronização e controle de qualidade que tem função de equiparar e determinar o melhor método para o acompanhamento vital da semente.

A Abrates (1999) preconiza que os testes de vigor são utilizados com várias finalidades, mas a razão fundamental é a determinação do potencial fisiológico de um lote de sementes. Os diferentes métodos não foram desenvolvidos para prever o número exato de sementes que germinará em campo, sob variadas condições de ambiente.

Sabe-se que um resultado de 85% no teste de frio não significa que 85% das plântulas vão sobreviver no campo, mas sim que um lote com 85% de germinação, após o teste de frio, tem maior probabilidade de sobreviver em campo, sob estresse, que um lote onde o resultado tenha sido de 70%. Se as condições de campo se aproximam das ideais, a emergência de plântulas de ambos os lotes será, provavelmente, semelhante (ABRATES, 1999).

Se as condições de estresse durante a germinação, desenvolvimento de plântulas ou durante o armazenamento forem drásticas, mesmo o lote mais vigoroso pode fracassar.

Assim, mesmo sabendo que um lote apresenta alto vigor, não há garantia total de um desempenho superior ou favorável. Há, apenas, maior probabilidade de um melhor desempenho em relação a lotes menos vigorosos.

A Embrapa (2008) comenta que a principal finalidade da análise de sementes é a de determinar a qualidade de um lote de sementes e, conseqüentemente, o seu valor para a semeadura. A análise é caracterizada pelo exame pormenorizado e crítico de uma amostra, com o objetivo de avaliar sua qualidade. A análise, ainda, é utilizada em trabalhos de pesquisa e na identificação de problemas de qualidade e suas causas.

Para a obtenção de sementes com um nível de qualidade proposto, é importante manter a produção sob controle e, dessa forma, a análise se constitui em instrumento imprescindível (NOVEMBRE, 2001).

Nos EUA, grande parte das companhias produtoras de sementes de grandes culturas tem usado os testes de vigor para identificação de lotes que não atingem os padrões internos de qualidade, classificação (“ranqueamento”) de lotes em diferentes níveis de qualidade fisiológica, avaliação do potencial para formação de estoques reguladores (“carry over”), tomada de decisões quanto à comercialização, procurando comercializar, em primeiro lugar, os lotes que atendem aos padrões de germinação, mas apresentam vigor mais baixo, e o fornecimento de informações sobre a qualidade fisiológica dos lotes aos consumidores (FRIGERI, 2007).

Há consenso internacional entre os pesquisadores, tecnologistas e produtores de sementes sobre a importância do vigor de sementes e a necessidade de avaliá-lo.

As informações sobre o vigor são ainda mais importantes para sementes de maior valor comercial, como as hortaliças. Estas podem ter sido peletizadas, cobertas por películas e, em outros países, pré-condicionadas fisiologicamente; além disso, como apresentam menores quantidades de reservas armazenadas, possuem maior propensão à queda do vigor após a maturidade fisiológica. O cultivo dessas espécies é efetuado de maneira intensiva e deve ser estabelecido com o uso de sementes que germinem rápida e uniformemente e, portanto, de qualidade superior. Essa procura específica vem a trazer retornos gerais, ou seja, a procura de métodos que sejam satisfatórios na predição da qualidade fisiológica da semente através do vigor de sementes de hortaliças servem na atualização metodológica das sementes de milho híbrido gerando um progresso tecnológico em busca de qualidade na determinação de testes de vigor.

Casos específicos podem servir como exemplo, e assim cita-se o transplante de mudas com tamanho e qualidade uniformes. As falhas na emergência ou a formação de plântulas fracas podem causar sérios prejuízos ou

acréscimos no custo de produção. Assim, nos casos específicos de espécies onde a condução da cultura envolve o transplante, as sementes devem ser de qualidade fisiológica comprovadamente elevada, o que exige o uso rotineiro de testes de vigor em programas de controle de qualidade.

Os testes de vigor se mostram então, muito úteis nas etapas de um programa de produção de sementes como avaliação do potencial fisiológicos de lotes com germinação semelhante, seleção de lotes para a semeadura, com base no potencial de emergência das plântulas em campo, avaliação do potencial de armazenamento, avaliação do grau de deterioração, controle de qualidade pós-maturidade, avaliação da qualidade fisiológica e auxílio em métodos de seleção durante o melhoramento de plantas e avaliação de efeitos de injúrias mecânicas e térmicas, tratamento fungicida e de outros fatores adversos pré e pós- colheita (MARCOS FILHO, 1999).

A tecnologia de sementes tem procurado aperfeiçoar os testes de germinação e de vigor de modo a obter resultados que expressem o comportamento efetivo das sementes no campo. Nesse caso, tem-se destacado o interesse pelos testes de vigor, principalmente em programas internos de controle de qualidade de empresas produtoras de sementes (VIEIRA et al., 1996).

### **2.3 Testes de Vigor de Sementes**

A história da Agricultura demonstra que os primeiros contatos entre o homem e a fisiologia de sementes foram estabelecidos a partir do momento em que foi descoberta a possibilidade de seu uso para a propagação de plantas, no século LXXX a.c.(ABRATES, 1999). Nesta situação, além de provocar profundas alterações positivas nos hábitos da vida humana, o início do uso de sementes para o estabelecimento de culturas, visando a produção de alimentos, também passou a se constituir em fonte de preocupação.

Assim, novos desafios surgiram diante da necessidade da determinação de épocas mais favoráveis pra a semeadura, da ocorrência de falhas na germinação,

de dificuldades inesperadas, como as causadas pela dormência, pela deterioração durante o armazenamento, pelas alterações na qualidade fisiológica provocada por patógenos. Conseqüentemente, o homem passou a resolver novos problemas, muitas vezes de forma empírica, mas, em geral, as soluções encontradas permitiram a evolução da tecnologia agrícola.

Frigeri (2007) cita que freqüentemente observam-se que lotes de sementes apresentando porcentagem de germinação semelhante exibem comportamentos distintos no campo e/ou no armazenamento. A perda de germinação é um indicativo importante da perda de qualidade, mas é a última conseqüência, ou seja, o evento final desse processo.

O uso de testes de vigor é de grande utilidade no monitoramento da qualidade das sementes, a partir da maturidade, pois a queda do vigor precede a perda de viabilidade (DIAS & MARCOS FILHO, 1995).

Portanto, o principal desafio das pesquisas sobre testes de vigor está na identificação de parâmetros adequados, comuns à deterioração das sementes, de forma que, quanto mais distante da perda da capacidade de germinação estiver o parâmetro empregado, mais promissor será o teste, fornecendo, assim, informações complementares àquelas obtidas através do teste padrão de germinação (AOSA, 1983).

O vigor de sementes, como definido pela International Seed Testing Association (ISTA, 1995), é um índice do grau de deterioração fisiológica e/ou integridade mecânica de um lote de sementes de alta germinação, representando sua ampla habilidade de estabelecimento no ambiente.

A definição de vigor de sementes como formulada pela Association of Official Seed Analysts (AOSA, 1983) é semelhante. O vigor de sementes é tido como aquela propriedade das sementes que determina o potencial para uma emergência rápida e uniforme e para o desenvolvimento de plântulas normais sob uma ampla faixa de condições de campo.

As definições dadas pela ISTA e AOSA apenas descrevem as conseqüências práticas do vigor das sementes, sendo este referido como um “índice” ou “aquela propriedade da semente”.

Os testes de vigor contribuem para detectar essas informações e, conseqüentemente, são úteis nas tomadas de decisões para o destino de um lote de sementes. Entre esses, vale ressaltar o teste de condutividade elétrica que, é um teste de vigor rápido e objetivo, que pode ser conduzido facilmente pelos vários laboratórios de análise de sementes, com o mínimo de gasto com equipamentos e treinamento de funcionários (HAMPTON & TEKRONY, 1995).

Os resultados dos testes de vigor são comparativos. Não é possível quantificar o vigor da semente, da mesma forma que não se quantifica saúde, nem alegria e muito menos a fertilidade do solo, pois todas são características não mensuráveis. Na verdade, o resultado de 60% de plântulas normais num teste de envelhecimento acelerado, num teste de frio, de primeira contagem de germinação, entre outros, nada significa se não for comparado com o obtido para outra amostra da mesma espécie e cultivar. Assim, expressões como 70% de vigor são incorretas e não devem ser utilizadas (ISTA 2001).

A impossibilidade da quantificação do vigor gera dificuldades tanto para a compreensão do seu significado quanto para a comparação de informações obtidas em diferentes testes, com isso a pesquisa tem procurado traduzir e estabelecer índices que contribuíssem para facilitar a interpretação e a utilização dos resultados.

De acordo com os historiadores, as pesquisas praticamente estagnaram entres 280 a.c. e o ano de 1800. Tomaram impulso no século XIX graças, principalmente, à divulgação, em 1860, das pesquisas conduzidas por Sachs, considerado como o “pai da moderna Fisiologia de Sementes” ao estudar as temperaturas cardeais para a germinação, e dos trabalhos de Nobbe que resultaram na publicação de livro sobre métodos para análise de sementes, em 1876 (ABRATES, 1999).

Além dos problemas mencionados anteriormente, a evolução das pesquisas em Tecnologia de Sementes também era bloqueada pela ausência de metodologia específica para análise em laboratórios.

A partir da divulgação dos trabalhos de Nobbe, a avaliação da qualidade fisiológica das sementes passou a ser efetuada rotineiramente, principalmente através do teste padrão de germinação. Posteriormente, a partir dos anos 40, o teste de tetrazólio foi desenvolvido por Lakon, na Alemanha. Ambos os testes passam a se constituir nos principais recursos para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, principalmente após a padronização da metodologia e sua inclusão nas Regras para Análise de Sementes.

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 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).

O teste de envelhecimento acelerado, que avalia o comportamento de sementes submetidas a temperatura e umidade relativa elevadas, foi desenvolvida por Delouche (1965), procurando estimar o potencial relativo de armazenamento de lotes de trevo e de festuca.

Para tanto, este pesquisador baseou-se em informações obtidas por Crocker & Graves, em 1915, segundo as quais a morte da sementes durante o armazenamento era causada pela coagulação de proteínas e que o aquecimento acelerava o processo; estes pesquisadores também sugeriram que testes de germinação, conduzidos após a exposição relativamente rápida de sementes a temperaturas elevadas (50 – 100° C), poderiam ser úteis para obter informações mais rápidas sobre a longevidade.

Delouche também levou em consideração a pesquisa conduzida por Helmer et al., (1962), que estudaram a germinação de sementes de trevo previamente expostas a temperatura e umidade relativa elevadas. Verificaram alta relação da

resposta a essas condições com o vigor e a emergência das plântulas em campo, sugerindo que o envelhecimento rápido ou acelerado poderia ser muito útil para avaliar o potencial de armazenamento das sementes.

Essa sugestão foi aceita e divulgada por diversos pesquisadores e o teste de envelhecimento passou a ser incluído em inúmeros projetos de pesquisa e seus resultados rapidamente difundidos pelos tecnologistas de sementes. A metodologia, descrita com maiores detalhes por Delouche e Baskin (1973), passou a ser estudada com maior profundidade, resultando daí importantes contribuições dirigidas à padronização do teste (BASKIN, 1977)

No Brasil, conforme levantamentos bibliográficos efetuados por Wetzel (1972) e Menezes et al., (1980), a introdução e o uso do teste de envelhecimento acelerado ocorreram em época muito próxima à verificada nos USA. O primeiro estudo específico sobre o assunto foi publicado por Toledo (1966), que considerou o “rapid aging” um método promissor para a avaliação do vigor em sementes de algodão. Em seguida, Abrahão & Toledo (1969) apresentaram conclusão semelhante para sementes de feijão, o que determinou a utilização desse teste em uma tese de doutorado, conduzida por Abrahão (1971), envolvendo estudos mais aprofundados e específicos sobre o teste, realizados por Wetzel (1972), Caldo (1973) e Krzyzanowsky (1974), além de sua inclusão em vários trabalhos de pesquisa e intensa divulgação em disciplinas de graduação, de pós-graduação e cursos de atualização.

Atualmente, o teste é utilizado para avaliar o vigor de sementes de diversas espécies e incluído em programas de controle de qualidade conduzidos por empresas produtoras de sementes, pois, em poucos dias, pode-se obter informações relativamente seguras sobre o potencial de armazenamento dos lotes processados e, dependendo do histórico do lote, do potencial de emergência das plântulas em campo (FRIGERI, 2007).

O teste de envelhecimento tem como base o fato de que a taxa de deterioração das sementes é aumentada consideravelmente através de sua exposição a níveis muito adversos de temperatura e umidade relativa,

considerados os fatores ambientais preponderantes na intensidade e velocidade de deterioração. Assim, verifica-se que amostras com baixo vigor apresentam maior queda de sua viabilidade, quando submetidas a essa situação; portanto, as sementes mais vigorosas geralmente são menos afetadas em sua capacidade de produzir plântulas normais e apresentam germinação mais elevada, após serem submetidas ao envelhecimento.

O teste de condutividade elétrica se mostra outra importante ferramenta na avaliação fisiológica de sementes de milho híbrido que atua na embebição dessas sementes e leva a perda de eletrólitos das sementes para a água e pode ser detectada avaliando-se a condutividade elétrica desses lixiviados (Powell, 1986).

O teste de condutividade elétrica foi proposto por Matthews & Bradnock (1967) para estimar o vigor de sementes de ervilha. Esse teste avalia a quantidade de eletrólitos liberada pelas sementes durante a embebição, que está, diretamente, relacionada à integridade das membranas celulares (MATTHEWS & POWELL, 1981). Membranas mal estruturadas e células danificadas estão, geralmente, associadas com o processo de deterioração da semente e, portanto, com sementes de baixo vigor (AOSA, 1983).

O teste de condutividade elétrica baseia-se no princípio de que, com o processo de deterioração, ocorre aumento da lixiviação dos constituintes celulares das sementes embebidas em água, devido à perda da integridade dos sistemas de membranas celulares (HEPBURN ET AL., 1984). Assim, considera-se o vigor das sementes inversamente proporcional à leitura da condutividade elétrica (VIEIRA, 1994; VIEIRA E KRZYZANOWSKI, 1999).

A determinação da condutividade elétrica da solução de embebição da semente, como teste de vigor, é recomendada para sementes de ervilha e sugerida para as de soja (AOSA, 2002), espécie em que tem sido observada relação entre os resultados desse teste com os de emergência de plântulas em campo (VIEIRA et al., 1999). Por outro lado, os estudos sobre o teste de condutividade elétrica em sementes de milho são mais escassos.

O efeito da temperatura se manifesta, basicamente, sobre a quantidade e velocidade de liberação de exsudatos durante a embebição, sem alterar, necessariamente, a classificação dos lotes quanto ao vigor (Hampton e TeKrony, 1995). No caso de sementes relativamente pequenas, como as de hortaliças, a lixiviação máxima pode ocorrer em período inferior a duas horas (Murphy e Noland, 1982), ao passo que em sementes maiores, como as de soja, verifica-se aumento da lixiviação até 24-30 horas após o início da embebição, a 25°C (Loeffler et al., 1988).

No Brasil, um dos testes mais utilizados para verificação do vigor em sementes de milho é o teste de frio. Esse teste tem sido utilizado por empresas produtoras de sementes, principalmente nos estados do sul e sudeste, onde lavouras de algodão, milho e soja podem ser semeadas entre o início do mês de setembro e meados de outubro. Nesta época, é comum a ocorrência de frentes frias chuvosas, as quais, dependendo do nível de vigor dos lotes de sementes, poderão provocar sérios problemas para a germinação e emergência de plântulas (KRZYZANOWSKI et al, 1991).

Krzyzanowski et al. (1991), Cícero & Vieira (1994) e Dias & Barros (1995) relataram variações da metodologia do teste de frio, embora a maioria das análises seja conduzida utilizando-se a metodologia de “terra em caixa”. O método do rolo de papel, com e sem o uso de “terra”, é utilizado esporadicamente e o “método da bandeja” praticamente não tem sido reconhecido no Brasil, embora seja o procedimento mais recomendado internacionalmente.

O teste de frio, que tem como princípio básico a exposição das sementes a baixa temperatura, alta umidade e agentes patogênicos (quando se utiliza terra procedente de áreas de cultivo da espécie), pode funcionar como instrumento de grande valor para a seleção prévia de lotes de sementes, quanto ao seu desempenho, em uma ampla faixa de condições ambientais (ABRATES, 1999). Esse é considerado um teste de resistência, pois o lote de sementes que melhor resistir às condições adversas é considerado o de maior potencial fisiológico. De forma geral, se os resultados do teste de frio se aproximarem dos obtidos no teste

padrão de germinação, há grande possibilidade desse lote apresentar capacidade para germinar sob ampla variação das condições de umidade e temperatura do solo (Cicero & Vieira, 1994).

No Brasil, esse teste tem sido utilizado por empresas produtoras de sementes, principalmente nos estados do sul e sudeste, onde lavouras de algodão, milho e soja podem ser semeadas entre o início do mês de setembro e meados de outubro. Nesta época, é comum a ocorrência de frentes frias chuvosas, as quais, dependendo do nível de vigor dos lotes de sementes, poderão provocar sérios problemas para a germinação e emergência de plântulas (Krzyzanowski et al, 1991).

O método de “terra em caixa” encontra sérios entraves à padronização, pois requer o uso de maior quantidade de substrato, quando comparado com outros métodos. A mistura areia/terra na proporção 2:1 ou 3:1, geralmente é colocada em caixas plásticas (47 x 30 x 11cm) ocupando um volume de, aproximadamente, 12.000 cm<sup>3</sup> e peso em torno de 16 kg. Desta forma, além da desuniformidade causada pela origem da “terra”, surgem outros problemas causados pela distribuição desuniforme de água no substrato, pelo período necessário para o substrato atingir a temperatura desejada (10°C) e, também, pelo manuseio das caixas, que apresentam peso relativamente elevado (ABRATES, 1999). Outra preocupação decorrente desse procedimento refere-se à disposição das caixas no interior da câmara fria; geralmente são superpostas formando pilhas e, desta forma, o resfriamento do substrato pode não ocorrer de maneira uniforme inter e intra caixas. Tais fatores podem influenciar acentuadamente a resposta das sementes ao teste de frio, colocando em dúvida a confiabilidade e reprodutibilidade do procedimento.

O teste de primeira contagem de germinação se baseia no princípio de que as amostras que apresentam maiores porcentagens de plântulas normais na primeira contagem estabelecidas pelas Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 1992), serão as mais vigorosas, o que se correlaciona com a velocidade de germinação, porém pode ter uma resposta melhor que o teste de velocidade

como relatam Brown e Mayer (1986), reforçando então a afirmação de que este teste é de grande interesse para avaliação do vigor de sementes de milho visto também sua praticidade e tempo de execução.

Como se utiliza o próprio teste de germinação para sua execução, basta que se siga as normas das Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 1992), onde a uniformidade e a velocidade de emergência de plântulas são os mais importantes componentes dentro da conceituação atual de vigor de sementes, sendo a avaliação do crescimento da plântula um teste lógico e específico como teste de vigor (AOSA, 1983), bem como a avaliação do comprimento de plântulas normais e anormais.

Os testes de massa seca e comprimento de plântulas são considerados assim como o de velocidade de germinação como testes que consideram que lotes que apresentam sementes mais vigorosas e que originarão plântulas com maiores taxas de desenvolvimento e ganho de massa em função de apresentarem maior capacidade de transformação dos tecidos e suprimento das reservas dos tecidos de armazenamento e fundamentação destes na composição e formação do eixo embrionário, (DAN et al., 1987).

São vários os estudos sobre o potencial fisiológico de diferentes tipos de sementes que têm evidenciado que o teste de germinação não traduz totalmente o potencial de desempenho de sementes dessas espécies (Nascimento, 1994). Portanto, o uso de testes de vigor é de grande utilidade no monitoramento da qualidade das sementes (Panobianco e Marcos Filho, 2001).

### **2.3.1 Emergência em campo de sementes de milho e testes de vigor**

As sementes são utilizadas para a propagação de plantas de expressão econômica. O estabelecimento das plântulas em campo é o reflexo de todos os cuidados dirigidos ao campo, à colheita, ao processamento e ao armazenamento das sementes. Os conceitos sobre vigor enfatizam o potencial de emergência e

inúmeras pesquisas demonstram a existência de relação entre vigor e a emergência de plântulas. Conseqüentemente, os resultados de testes de vigor devem ser associados aos de emergência das plântulas em campo, para monitoramento de sua eficiência.

No campo, as sementes, estão sujeitas à condições adversas, tais como o excesso ou déficit hídrico, a obstrução mecânica imposta por compactação da camada de solo que as cobre e o ataque de microrganismos e insetos (Perry, 1981).

A porcentagem de emergência das plântulas em campo, às vezes, é menor do que a porcentagem de germinação obtida com o teste de germinação (Johnson & Wax, 1978). Em função disso e da procura de metodologia com sensibilidade suficiente para estimar com precisão a qualidade dos lotes de sementes, testes de vigor tem evoluído à medida que vêm sendo aperfeiçoados, ganhando precisão e reprodutibilidade de seus resultados, o que é de fundamental importância nas decisões que devem ser tomadas nas fases de produção e comercialização dos lotes, evitando o beneficiamento, transporte, comercialização e semeadura de material de qualidade inadequada (Krzyzanowski & França Neto, 1991).

Os diferentes métodos de avaliação utilizados não foram desenvolvidos para prever o número exato de sementes que germinará em campo, sob variadas condições de ambiente. Assim, mesmo sabendo que um lote apresenta alto vigor, não há garantia total de um desempenho superior ou favorável. Há apenas, maior probabilidade de um melhor desempenho em relação a lotes menos vigorosos (Marcos Filho, 1999).

Johnson & Wax (1978) observaram que maior o número de testes de vigor relacionou-se à emergência em campo, quando as condições de semeadura foram favoráveis, em comparação a condições adversas, e sendo assim, muitas técnicas podem ser utilizadas para avaliar o vigor de sementes.

Burris (1976) comenta em seus estudos que o alto vigor de sementes pode ter uma influência positiva na emergência de plântulas em campo, porém, a

magnitude desta influência pode ser modificada pelo ambiente no qual a semente se encontra.

Assim, quanto mais próximas do ambiente ideal forem as condições para o processo de germinação e emergência no campo, maior será a relação entre o vigor determinado em laboratório e a emergência em campo, quando as condições de semeadura forem favoráveis, em comparação a condições adversas, concretizando-se a importância de se definir testes de vigor que sejam representativos.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido com sementes de milho híbrido provenientes da Empresa Dow Agrosience, que forneceu 9 lotes de sementes para realização do trabalho.

As sementes dos 9 lotes foram avaliadas, e denominados como lotes de maior vigor (1, 2, e 3) com germinação em torno de 95%, de médio vigor (4, 5 e 6) com germinação em torno de 85 % e de menor vigor (7, 8 e 9) com germinação em torno de 75%. Faz-se necessário explicar que o valor de 75% é aceito como padrão mínimo por alguns estados brasileiros (EMBRAPA, 1993).

Os testes de vigor, sendo o de primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado a 96 horas, envelhecimento acelerado a 120 horas, frio, condutividade elétrica, massa seca, comprimento de plântulas normais e anormais de acordo com a ISTA, comprimento de plântulas normais e anormais de acordo com a AOSA foram escolhidos com o objetivo de que estimassem o comportamento germinativo dos 9 lotes quando semeados em campo em três locais do estado de São Paulo, ou seja, Jaboticabal, Piracicaba e Fernandópolis.

#### **3.1 Análises Laboratoriais**

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal – Unesp.

##### **3.1.1 Teor de Água da Semente**

Foi determinado utilizando-se quatro repetições de sementes inteiras para cada tratamento, em estufa regulada a  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992);

### **3.1.2 Teste de Germinação**

Foi conduzido em papel toalha umedecido na proporção de 2,5 vezes a massa (g) seca do substrato, em quatro repetições de 50 sementes. Os rolos de papel, acondicionados em sacos plásticos, foram mantidos em germinador a  $25^{\circ}\text{C}$ . As contagens foram realizadas aos cinco e oito dias após a instalação do teste, seguindo os critérios estabelecidos em Brasil (1992). Os resultados foram expressos em porcentagem.

### **3.1.3 Primeira Contagem de Germinação**

Constituiu na determinação, em porcentagem, das plântulas normais aos cinco dias após a instalação do teste de germinação, sendo considerado como teste de vigor (Brasil, 1992).

### **3.1.4 Teste de Envelhecimento Acelerado a 96 horas/ $42^{\circ}\text{C}$**

Foi adotada a metodologia recomendada pela AOSA (1983) e descrita em Marcos Filho (1999b), em caixas plásticas, ditas gerbox (10 x 10 x 3cm), utilizando quatro repetições de 42g de sementes distribuídas, em camada uniforme e única, sobre bandeja de tela metálica fixada no interior de caixa plástica contendo 40 ml de água destilada. As caixas, tampadas e acondicionadas em sacos plásticos, foram mantidas a  $42^{\circ}\text{C}$  por 96 horas. Após este período, quatro repetições de 25

sementes foram submetidas a determinação do teor de água e, quatro repetições de 50 sementes submetidas ao teste padrão de germinação, conforme prescrições das Regras para Análise de Sementes (AOSA, ISTA, ABRATES).

### **3.1.5 Teste de Envelhecimento Acelerado a 120 horas/42°C**

Foi adotada a metodologia recomendada pela AOSA (1983) e descrita em Marcos Filho (1999b) e seguindo todos os padrões do item 3.1.4 deste trabalho com alteração apenas no tempo de condicionamento do gerbox na estufa que foi de 42 °C por 120 horas.

### **3.1.6 Teste de Frio**

Em cada caixa plástica foram colocados aproximadamente 3000 g da mistura areia e solo sobre os quais foram distribuídas quatro repetições de 50 sementes, as quais foram então cobertas com os 1000 g restantes da mistura. Adicionou-se água uniformemente em toda a caixa, que foram tampadas e vedadas com fita crepe. Em seguida, as caixas foram colocadas em câmara previamente regulada a 10°C, onde permaneceram por sete dias. Após esse período, as caixas foram destampadas e transferidas para ambiente com temperatura aproximada de 25°C, por sete dias, período durante o qual as caixas não foram umedecidas novamente. A avaliação foi realizada considerando-se somente as plântulas normais emergidas e o resultado final foi a média das porcentagens obtidas nas quatro repetições (ABRATES, 1999).

### **3.1.7 Teste de Condutividade Elétrica**

Para esta avaliação, quatro repetições de 50 sementes, com massa conhecida, foram colocadas para embeber em recipientes plásticos contendo 75 ml de água destilada, por um período de 24 horas a 25°C. Em seguida, as amostras foram agitadas para homogeneização dos exsudados liberados na água, efetuando-se a leitura da condutividade elétrica da solução de embebição em condutivímetro modelo Digimed DM 31, previamente calibrado, com eletrodo de constante 1,0, expressando-se os resultados em  $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$  de sementes (Vieira, 1994).

### **3.1.8 Massa Seca de Plântulas (ISTA)**

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes em um teste conduzido à semelhança do teste padrão de germinação. Após permanência por 5 dias no germinador em substrato papel toalha, as plântulas normais e as anormais de cada repetição foram retiradas do substrato e contadas. Com o auxílio de uma lâmina de barbear, foram removidos o restante das sementes (resíduo do tecido de reserva). As plântulas normais e as anormais foram colocadas, separadamente uma das outras e por repetições, em sacos de papel e postas para secar em estufa termoeleétrica regulada a 80°C, durante 24 horas. Após esse período, as amostras foram retiradas da estufa e colocadas para esfriar em dessecador. As repetições uma vez esfriadas, foram pesadas em balança com precisão de 0,0001 g determinando-se assim o peso da massa seca das plântulas normais e anormais da repetição.

- Massa das plântulas normais/ número de plântulas normais (MN/ NN);
- Massa das plântulas normais/ número de sementes semeadas (MN/ 50);
- Massa das plântulas normais + Massa da plântulas anormais/ número de sementes semeadas (MN + MA/ 50);
- Massa da plântulas normais + Massa da plântulas anormais/ Número de plântulas normais + Número de plântulas anormais (MN + MA/ NN + NA).

Os resultados foram expressos em g, com duas casas decimais.

### **3.1.9 Comprimento de Plântulas (ISTA)**

Foi realizado em rolo de papel com quatro repetições por amostra. Para confeccionar-se o rolo, empregaram-se três folhas de papel-toalha de 28 x 38 cm, duas debaixo das sementes e uma cobrindo-as. O papel foi umedecido 2,5 vezes o peso do substrato seco. Por repetição, foram empregadas 10 sementes, que foram semeadas no papel substrato pré-umedecido, sobre uma linha traçada no terço superior, no sentido longitudinal. A partir dessa linha, e em direção ao topo da folha, foram riscadas 15 linhas paralelas a 1 cm uma da outra.

A semente de milho foi posicionada com a ponta da radícula para a parte inferior do papel e o embrião voltado para cima, visando orientar o crescimento da plântula de forma mais retilínea possível.

Os rolos foram preparados normalmente como no teste de germinação. Os rolos em cada teste foram amarrados com atílio de borracha e colocados de pé no interior do germinador de maneira que as radículas ficassem apontando para baixo, fechados com saco plástico, visando manter constante a umidade dos rolos. A distância entre a extremidade superior dos rolos e o topo do saco plástico foi de 15 cm, para o desenvolvimento normal das plântulas. O germinador foi regulado a 25°C e ausência de luz (AOSA, 1983). Após cinco dias no germinador, as plântulas normais e anormais, foram contadas e medidas entre as linhas que se situavam.

Para determinar o comprimento médio das plântulas em cm foram utilizadas as seguintes recomendações:

#### **1) Incluindo as plântulas normais (ISTA):**

$$L = n \times 1 + n \times 2 + n \times 3 + \dots + n \times 15 / N'$$

Onde: L = comprimento médio das plântulas; n = número de caulículos de plântulas normais determinado entre as paralelas de 1 a 15, e N' = soma do número de plântulas normais por repetição.

## 2) Incluindo as plântulas normais e anormais:

$$L = n \times 1 + n' \times 1 + n \times 2 + n' \times 2 + n \times 3 + n' \times 3 + \dots + n \times 15 + n' \times 15 / N''$$

Onde: L = comprimento médio das plântulas; n = número de caulículos de plântulas normais determinado entre as paralelas de 1 a 15, n' = número de caulículos de plântulas anormais determinado entre as paralelas de 1 a 15 e N'' = soma dos números de plântulas normais e anormais por repetição.

Os resultados foram expressos em cm, com duas casas decimais e o valor do comprimento da plântula foi a média aritmética das repetições.

### 3.1.10 Comprimento de Plântulas (ABRATES)

Seguiu-se o mesmo procedimento já descrito acima para comprimento de plântulas (ISTA). Por repetição, foram empregadas 10 sementes, que foram semeadas no substrato pré-umedecido, sobre uma linha traçada no terço superior, no sentido longitudinal. A semente de milho foi posicionada com a ponta da radícula para a parte inferior do papel e o embrião voltado para cima, visando orientar o crescimento da plântula de forma mais retilínea possível.

Os rolos foram preparados normalmente como no teste de germinação. Os rolos em cada teste foram amarrados em atílio de borracha e colocados de pé no interior do germinador, fechadas com saco plástico, visando manter constante a

umidade dos rolos. A distância entre a extremidade superior dos rolos e o topo do saco plástico foi de 15 cm, para o desenvolvimento normal das plântulas. O germinador foi regulado a 25°C e ausência de luz (AOSA, 1983). Após cinco dias no germinador, as plântulas normais e anormais foram contadas e medidas com auxílio de uma régua, com graduação em cm.

Tomou-se como medida para o comprimento de plântulas com régua graduada em milímetros:

- o comprimento total de plântula (da ponta da raiz primária até o topo da folha primária);
- o comprimento da parte aérea
- o comprimento do eixo radicular principal

Foram realizadas duas avaliações para o comprimento de plântulas, considerando somente as plântulas normais (ABRATES, 1999) e incluindo as plântulas anormais na avaliação.

#### 1) Comprimento de plântulas normais (ABRATES, 1999):

Após serem contadas e medidas as plântulas normais, foram determinados:

- Comprimento da plântula inteira dividido pelo número de sementes por repetição ( $I/10$ );
- Comprimento da parte aérea dividido pelo número de sementes por repetição ( $A/10$ );
- Comprimento do eixo radicular dividido pelo número de sementes por repetição ( $R/10$ );
- Comprimento da plântula inteira dividido pelo número de plântulas normais ( $I/NN$ );
- Comprimento da parte aérea dividido pelo número de plântulas normais ( $A/NN$ );
- Comprimento do eixo radicular dividido pelo número de plântulas normais ( $R/NN$ );

## 2) Comprimento de plântulas normais + plântulas anormais:

Após serem contadas e medidas as plântulas normais e anormais, foram determinados:

- Comprimento da plântula inteira dividido pelo número de sementes por repetição ( $I/10$ );
- Comprimento da parte aérea dividido pelo número de sementes por repetição ( $A/10$ );
- Comprimento do eixo radicular dividido pelo número de sementes por repetição ( $R/10$ );
- Comprimento da plântula inteira dividido pelo número de plântulas normais ( $I/NN$ );
- Comprimento da parte aérea dividido pelo número de plântulas normais ( $A/NN$ );
- Comprimento do eixo radicular dividido pelo número de plântulas normais ( $R/NN$ );

Os resultados foram expressos em cm, com duas casas decimais, e o valor do comprimento da plântula e de parte dela foi a média aritmética das repetições.

## 3.2 Avaliações de Campo

O teste de emergência de plântulas em campo foi realizado em Jaboticabal, na área experimental do Departamento de Produção Vegetal, em Piracicaba, no Departamento de Fitotecnia pertencente à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP e, em Fernandópolis, na Universidade Castelo – UNICASTELO.

### 3.2.1 Teste de Emergência de Plântula em Campo

O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo subtropical mesotérmico, ou seja, com verão úmido e inverno seco, as chuvas se concentram de outubro a março para as três localidades.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, totalizando 9 tratamentos, com 4 repetições de 100 sementes. As sementes foram semeadas em sulco com 4,0 m de comprimento, aproximadamente 2,0 cm de profundidade e o espaçamento entre linhas foi de 0,5 metros, simulando a semeadura no campo propriamente dita, sendo irrigadas sempre que necessário. A contagem das plântulas normais emergidas foi efetuada aos 14 dias após a semeadura com expressão dos resultados em porcentagem (Nakagawa, 1994).

### **3.2.2 Características das regiões:**

#### **3.2.2.1 Jaboticabal-SP**

A área experimental usada em Jaboticabal encontra-se a 21°14'05" de latitude Sul, 48°17'09" de longitude Oeste de Greenwich, e altitude de 615 metros. A precipitação média do Município no período de condução do teste de emergência de plântulas em campo foi de 48,5 mm, a média da umidade relativa do ar foi de 71,9% e da temperatura, 24,3°C.

#### **3.2.2.2 Piracicaba-SP**

A área usada em Piracicaba, pertencente à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, encontra-se a 22°42'30" latitude Sul, 47°38'00" longitude Oeste de Greenwich, e altitude de 546 metros. A precipitação média no período de condução do teste foi de 42,3 mm, a média da umidade relativa do ar foi de 71,6% e da temperatura, 23,5 °C.

### 3.2.2.3 Fernandópolis-SP

O teste foi conduzido na área da Fazenda de Ensino e Pesquisa da Universidade Camilo Castelo Branco, Fazenda Santa Rita, Campus de Fernandópolis - SP, localizada entre as coordenadas 20°16'50" latitude Sul e 50°17'43" longitude Oeste e a uma altitude de 520 m. O solo utilizado é um ARGISSOLO Vermelho-Amarelo eutrófico abráptico A moderado textura arenosa/média relevo suave ondulado e ondulado.

A precipitação média do município no período de condução do teste de emergência de plântulas em campo foi de 22,0 mm, a média da umidade relativa do ar foi de 74% e a temperatura média de 23,0 °C.

## 3.3 Análises Estatísticas

O experimento conduzido em laboratório e seguiu delineamento inteiramente casualizado e o teste de emergência de plântulas em campo em delineamento em blocos ao acaso. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. Dados expressos em porcentagem foram transformados em arc sem [raiz (%/100)]. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa ESTAT, desenvolvido pelo Departamento de Ciências Exatas da FCAV-UNESP, Campus de Jaboticabal.

Posteriormente, foram calculados, os coeficientes de correlação simples ( $r$ ) entre os resultados dos testes realizados em laboratório e os resultados do teste de emergência de plântulas em campo. A significância dos valores de  $r$  foi verificada pelo teste  $t$  (Gomes, 1990), aos níveis de 5,0 e 1,0% de probabilidade.

Os resultados dos testes de correlação foram usados para se avaliar a eficiência dos testes laboratoriais em prever o comportamento germinativo dos lotes sob condições de campo.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

São apresentados na tabela 01 os resultados dos testes de teor de água, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado por 96 horas/42°C, envelhecimento acelerado por 120 horas/42°C, teor de água após os envelhecimentos acelerados, teste de frio, condutividade elétrica e emergência de plântulas em campo em Jaboticabal, Piracicaba e Fernandópolis. Os resultados de testes de massa de matéria seca de plântulas e de comprimento de plântulas, usando-se como procedimento básico o indicado pela ISTA (1996), são apresentados na Tabela 2. Na Tabela 3 são apresentados os resultados obtidos para o comprimento de plântulas, tomando-se por base de procedimento o preconizado pela ABRATES (1999). As médias, comparadas pelo teste de Tukey, indicam diferenças entre os lotes.

Os coeficientes de correlação linear simples ( $r$ ) entre as médias dos resultados dos testes realizados em laboratório e desempenho em campo de sementes de milho híbrido são apresentados na Tabela 4.

Na Tabela 5, tendo em vista a análise crítica dos resultados, os valores de correlação entre os testes laboratoriais com o desempenho germinativo dos lotes foram ordenados de maneira decrescente. Na Tabela 6 é apresentado o tempo total gasto, neste experimento, para a completa condução de cada um dos testes considerados que são também demonstrados em ordem decrescente.

Os testes de vigor empregados neste trabalho conseguiram, de forma variável de um teste para outro, identificar, entre os 9 lotes utilizados, aqueles que seriam de alto, de médio e de baixo vigor, conforme se pode verificar pelas Tabelas 1, 2 e 3, onde a eficiência desses testes foi avaliada por meio de análise de correlação (Tabela 4).

Os dados de correlação mostram o grau de acerto proporcionado por um teste laboratorial na sua previsão do desempenho germinativo de um lote quando semeado em campo.

Iniciando pela análise da correlação, resolveu-se reagrupar os valores encontrados o que foi feito na Tabela 5. Nessa tabela, os valores de correlação dos 26 testes foram ordenados de forma decrescente, na suposição de que, quanto maior o valor de correlação de um teste, maior sua sensibilidade em prever o desempenho de sementes em campo. Para a elaboração dessa tabela, para fins de simplificação, os valores de correlação citados são médias de correlação dos três locais do experimento, conforme indicado na Tabela 4.

Observa-se na Tabela 5 que, do total de 26 testes, 16 deram correlações altamente significativas com o desempenho germinativo dos lotes sob condições de campo.

Dos testes que mais se destacaram, definiu-se os três primeiros como mais significantes, ou seja, com maior exatidão estatística, sendo eles os testes do envelhecimento acelerado, o da condutividade elétrica e o de frio.

Esses testes estão entre os primeiros a serem desenvolvidos por meio da pesquisa em Tecnologia de Sementes (PERRY, 1972; TEKRONY, 1982). São esses testes que, desde que foram criados, passaram por várias modificações ou adaptações resultantes da adoção de novos procedimentos, da introdução de novos materiais e do uso de diferentes equipamentos.

É possível que esses trabalhos de investigação com esses testes, bem como a sua utilização em escala quase rotineira por empresas produtoras de sementes, tenham concorrido para o seu aperfeiçoamento, de modo a levá-los a uma alta sensibilidade na avaliação do vigor de lotes de sementes.

Para condições ambientais agrícolas que se aproximem daquelas verificadas, neste experimento, em Piracicaba, Jaboticabal e Fernandópolis, é provável, portanto, que esses testes consigam prever com alta sensibilidade o que esperar do desempenho germinativo de lotes de sementes de milho híbrido.

Os testes ocupando as posições 4 a 16 também deram correlações altamente significativas,

**Tabela 1.** Resultados dos testes de teor de água (TA), germinação padrão em areia (G), primeira contagem de germinação (PC),

| LOTE              | TA    | G         | PC        | EA 96    | TAEA<br>96 | EA 120    | TAEA<br>120 | TF         | CE                                  | EC                 |                    |                    |
|-------------------|-------|-----------|-----------|----------|------------|-----------|-------------|------------|-------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                   |       |           |           |          |            |           |             |            |                                     | J                  | P                  | F                  |
|                   |       |           |           |          |            |           |             |            |                                     | ----- % -----      |                    |                    |
|                   |       |           |           |          |            |           |             |            | $\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ | ----- % -----      |                    |                    |
| 1                 | 11,55 | (95)89a   | (95)87a   | (98)83a  | 32,23      | (91,5)85a | 38,34       | (97)81a    | 26.628cd                            | (93,5)75a          | (93)75ab           | (93)75a            |
| 2                 | 11,34 | (95)89a   | (96)87a   | (97)80ab | 32,12      | (91,5)85a | 38,10       | (94)75abc  | 22.159a                             | (95,7)78a          | (93)75ab           | (92,7)74a          |
| 3                 | 10,95 | (94)87ab  | (94,5)86a | (96)79ab | 31,80      | (91,5)85a | 38,00       | (95)79a    | 22.762a                             | (94,0)75a          | (96)78a            | (95,3)77a          |
| 4                 | 11,45 | (94)87ab  | (92,0)85a | (82)65cd | 32,40      | (87)82ab  | 38,38       | (89)72 abc | 25.336abc                           | (94,0)75a          | (95)78a            | (93,8)75a          |
| 5                 | 11,17 | (94)87ab  | (90)84ab  | (89)71bc | 32,30      | (84)81ab  | 38,29       | (89)70abc  | 28.454d                             | (86)68b            | (89)70b            | (88)70ab           |
| 6                 | 11,83 | (92)86abc | (90)84ab  | (85)67cd | 32,78      | (87)82ab  | 38,65       | (83)66bc   | 24.278ab                            | (95,7)78a          | (95)78a            | (94,3)76a          |
| 7                 | 11,31 | (90)84bc  | (85,0)81b | (80)63cd | 32,15      | (76,5)76b | 38,15       | (76)60c    | 26.5abcd                            | (91) 73ab          | (91)73ab           | (93,8)76a          |
| 8                 | 11,57 | (88)83c   | (85,0)81b | (76)60d  | 32,26      | (78,5)77b | 38,35       | (76)60c    | 25.819abc                           | (90)71ab           | (87)69b            | (88)69ab           |
| 9                 | 11,66 | (88)83c   | (84,5)81b | (84)66cd | 32,40      | (81)79ab  | 38,60       | (81)64bc   | 27.002bcd                           | (90)71ab           | (92)73ab           | (91,5)73a          |
| <b>Teste F</b>    | --    | 4,67*     | 9,70**    | 16,54**  | --         | 6,21**    | --          | 9,27**     | 7,09*                               | 5,17**             | 4,58**             | 2,01 <sup>NS</sup> |
| <b>F (blocos)</b> |       | -         | -         | -        | -          | -         | --          | -          | -                                   | 0,73 <sup>NS</sup> | 0,88 <sup>NS</sup> | 1,97 <sup>NS</sup> |
| <b>CV (%)</b>     | -     | 2,43      | 1,99      | 5,67     | --         | 3,34      | --          | 7,28       | 6,04                                | 4,09               | 4,08               | 5,16               |

envelhecimento acelerado a 96 horas (EA 96), teor de água após EA 96 (TAEA 96), envelhecimento acelerado a 120 horas (EA 120), teor de água após EA 120 (TAEA 120), teste de frio (TF), emergência em campo (EC): Jaboticabal (J), Piracicaba (P), Fernandópolis (F), Condutividade elétrica (CE), em nove lotes de sementes de milho híbrido.

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra, na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Para efeito de análise estatística os dados G, PC, EA 96, EA 120, TF, EC (Jaboticabal, Piracicaba, Fernandópolis) foram transformados em arc sem {raiz (%100)}. Entre parêntese estão apresentados os valores originais. <sup>NS</sup> Não significativo; \* significativo a 5%; \*\* significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. Lotes: 1, 2, 3, (alto vigor); 4 5,6(médio vigor); 7 8,9(baixo vigor).

**Tabela 2.** Resultados dos testes de massa seca de plântulas e comprimento de plântulas de milho usando-se como procedimento básico o recomendado pela ISTA (1995).

| Lotes          | Massa seca de plântulas normais e plântulas anormais ( g ) |               |               |                    | CP (ISTA) (cm)     |                    |                    |                    |
|----------------|------------------------------------------------------------|---------------|---------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                | ----- g -----                                              | ----- g ----- | ----- g ----- | ----- g -----      | ----- cm -----     | ----- cm -----     | ----- cm -----     | ----- cm -----     |
|                | MN/NN                                                      | MN/50         | MN +<br>MA/50 | MN + MA/NN<br>+ NA | CN/10              | CN<br>+CA/10       | CN/NN              | CN+CA/ NN+NA       |
| 1              | 0,0678 a                                                   | 0,0668 a      | 0,0664 a      | 0,0664 a           | 11,86 a            | 11,75 a            | 11,90a             | 11,75a             |
| 2              | 0,0595 abc                                                 | 0,0578 abc    | 0,0579 abc    | 0,0582 abc         | 11,64 a            | 11,60 a            | 11,68a             | 11,60a             |
| 3              | 0,0643 ab                                                  | 0,0636 ab     | 0,0632 ab     | 0,0632 ab          | 11,46 a            | 11,46 a            | 11,54a             | 11,44 a            |
| 4              | 0,0670 a                                                   | 0,0669 a      | 0,0661 a      | 0,0665 a           | 10,90 a            | 10,86 a            | 10,92a             | 10,80 a            |
| 5              | 0,0646 a                                                   | 0,0648 a      | 0,0640 a      | 0,0644 a           | 11,40 a            | 11,40 a            | 11,40a             | 11,45 a            |
| 6              | 0,0568 abc                                                 | 0,0566 abc    | 0,0562 abc    | 0,0562 bc          | 10,86 a            | 10,80 a            | 10,90a             | 10,80 a            |
| 7              | 0,0592 abc                                                 | 0,0588 abc    | 0,0583 abc    | 0,0588 abc         | 10,21 a            | 10,02 a            | 10,25a             | 10,20 a            |
| 8              | 0,0560 abc                                                 | 0,0552 abc    | 0,0552 abc    | 0,0555 bc          | 10,50 a            | 10,45 a            | 10,55a             | 10,50 a            |
| 9              | 0,0612 ab                                                  | 0,0609 ab     | 0,0603 ab     | 0,0603 ab          | 10,64 a            | 10,30 a            | 10,70a             | 10,35 a            |
| <b>Teste F</b> | 8,68**                                                     | 6,72**        | 10,08**       | 9,67**             | 0,74 <sup>NS</sup> | 1,05 <sup>NS</sup> | 0,90 <sup>NS</sup> | 1,25 <sup>NS</sup> |
| <b>CV (%)</b>  | 4,76                                                       | 6, 12         | 7,40          | 11,62              | 9,06               | 10,08              | 8,7                | 9,5                |

<sup>1</sup> Médias situadas na mesma coluna, seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. <sup>NS</sup> não significativo; \* significativo a 5%; \*\* significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

MN: massa de plântulas normais; MA: massa de plântulas anormais; 50: número de sementes semeadas por repetição; NN: número de plântulas normais; NA: número de plântulas anormais; CN: comprimento de plântulas normais; CA: comprimento de plântulas anormais e 10: número de sementes semeadas por repetição. Lotes: 1, 2, 3, (alto vigor); 4, 5, 6, (médio vigor); 7, 8, 9, (baixo vigor).

**Tabela 3.** Resultados dos testes de comprimento de plântulas (ABRATES) em nove lotes de sementes de milho híbrido.

| Comprimento de plântulas (ABRATES) |                      |           |           |          |          |           |                                        |           |           |           |           |           |
|------------------------------------|----------------------|-----------|-----------|----------|----------|-----------|----------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Plântulas Normais                  |                      |           |           |          |          |           | Plântulas Normais + Plântulas anormais |           |           |           |           |           |
| cm                                 |                      |           |           |          |          |           | cm                                     |           |           |           |           |           |
| Lote                               | I/10                 | A/10      | R/10      | I/NN     | A/NN     | R/NN      | I/10                                   | A/10      | R/10      | I/NN +NA  | A/NN + NA | R/NN + NA |
| 1                                  | 28,10 a <sup>1</sup> | 12,58 ab  | 15,52 a   | 28,70 a  | 12,56 ab | 15,50 a   | 28,35 a                                | 12,60 a   | 15,64 a   | 28,70 a   | 12,60 ab  | 15,70 a   |
| 2                                  | 25,92 ab             | 11,92 abc | 14,00 ab  | 25,92 b  | 11,90 b  | 14,00 ab  | 25,92 ab                               | 11,92 abc | 14,50 ab  | 25,92 abc | 11,92 ab  | 14,50 ab  |
| 3                                  | 26,65 ab             | 12,10 ab  | 14,55 ab  | 26,40 ab | 12,05 ab | 14,37 ab  | 26,65 ab                               | 12,18 ab  | 14,55 ab  | 26,72 ab  | 12,20 ab  | 14,55 ab  |
| 4                                  | 25,04 ab             | 11,37 abc | 13,67 abc | 25,04 b  | 11,37 b  | 13,65 abc | 25,08 b                                | 11,45 abc | 13,67 abc | 25,04 abc | 11,45 abc | 13,67 abc |
| 5                                  | 25,15 ab             | 11,42 abc | 13,63 abc | 25,10 b  | 11,42 b  | 13,63 abc | 25,15 b                                | 11,42 abc | 13,63 abc | 25,20 abc | 11,42 abc | 13,63 abc |
| 6                                  | 26,08 ab             | 13,43 a   | 12,65 abc | 26,88 ab | 13,40 a  | 12,52 abc | 26,10 ab                               | 13,43 a   | 12,60 bc  | 26,88 ab  | 13,48 a   | 12,62 bc  |
| 7                                  | 25,62 ab             | 11,90 abc | 13,72 abc | 25,76 b  | 11,90 b  | 13,68 ab  | 25,62 b                                | 12,00 ab  | 13,70 abc | 25,86 abc | 12,05 ab  | 13,75 abc |
| 8                                  | 25,42 ab             | 11,37 abc | 14,05 ab  | 25,48 b  | 11,35 b  | 14,00 ab  | 25,42 b                                | 11,42 abc | 14,08 ab  | 25,54 abc | 11,45 abc | 14,10 abc |
| 9                                  | 24,71 b              | 11,45 bbc | 13,26 abc | 24,71 b  | 11,35 b  | 13,26 abc | 24,76 abc                              | 11,65 abc | 13,26 abc | 24,71 bc  | 11,70 abc | 13,26 abc |
| <b>Teste F</b>                     | 4,47**               | 15,30**   | 3,60**    | 5,68**   | 11,03**  | 5,63**    | 7,84**                                 | 14,73**   | 14,06**   | 20,08**   | 16,42**   | 15,25**   |
| <b>CV (%)</b>                      | 7,33                 | 12,66     | 10,74     | 9,23     | 7,44     | 7,84      | 8,70                                   | 7,88      | 8,83      | 14,86     | 8,15      | 7,85      |

<sup>1</sup> Médias situadas na mesma coluna, seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. <sup>NS</sup> não significativo; \* significativo a 5%; \*\* significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. I: comprimento total; A: comprimento da parte aérea; R: comprimento do eixo radicular; 10: número de sementes semeadas por repetição; NN: número de plântulas normais; NA: número de plântulas anormais Lotes: 1 2,3(alto vigor); 4 5,6(médio vigor); 7 8,9(baixo vigor).

**Tabela 4.** Coeficientes de correlação linear simples (r) entre as médias dos resultados dos testes realizados em laboratório e emergência em campo das plântulas de milho híbrido.

| TESTES EM LABORATÓRIO                    |             | EMERGÊNCIA EM CAMPO  |                      |                      |                      |
|------------------------------------------|-------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                                          |             | Jaboticabal          | Piracicaba           | Fernandópolis        | J, P, F              |
|                                          | G           | 0,8479**             | 0,7923*              | 0,6755*              | 0,8468**             |
|                                          | PC          | 0,8747**             | 0,7826*              | 0,7282*              | 0,8065**             |
|                                          | EA 96       | 0,9882**             | 0,8965**             | 0,8535**             | 0,9448**             |
|                                          | EA 120      | 0,8535**             | 0,7562*              | 0,7414*              | 0,7914*              |
|                                          | TF          | 0,9827**             | 0,9353**             | 0,8936**             | 0,9640**             |
|                                          | CE          | 0,9543**             | 0,8723**             | 0,8355**             | 0,9328**             |
| MS                                       | MN/NN       | 0,8505**             | 0,7686*              | 0,7172*              | 0,7909*              |
|                                          | MN/50       | 0,6782*              | 0,5979 <sup>NS</sup> | 0,8229**             | 0,7066*              |
|                                          | MN+MA/50    | 0,3933 <sup>NS</sup> | 0,2642 <sup>NS</sup> | 0,6475 <sup>NS</sup> | 0,4568 <sup>NS</sup> |
|                                          | MN+MA/NN+NA | 0,7549*              | 0,6796*              | 0,6538 <sup>NS</sup> | 0,7129*              |
| CP<br>(ISTA)                             | CN/10       | 0,9276**             | 0,8029**             | 0,8742**             | 0,8950**             |
|                                          | CN + CA/10  | 0,9344**             | 0,8524**             | 0,7563*              | 0,8813**             |
|                                          | CN/NN       | 0,9283**             | 0,8022**             | 0,8794**             | 0,8970**             |
|                                          | CN+CA/NN+NA | 0,9261**             | 0,7966*              | 0,8852**             | 0,8979**             |
| CP<br>Normais<br>(ABRATES)               | I/10        | 0,8638**             | 0,7642 <sup>NS</sup> | 0,8649**             | 0,8447**             |
|                                          | A/10        | 0,8562**             | 0,7584*              | 0,7574*              | 0,7948*              |
|                                          | R/10        | 0,8758**             | 0,7976*              | 0,7220*              | 0,8045**             |
|                                          | I/NN        | 0,7167*              | 0,6357 <sup>NS</sup> | 0,5665 <sup>NS</sup> | 0,7179*              |
|                                          | A/NN        | 0,8554*              | 0,7536*              | 0,7574*              | 0,7923*              |
|                                          | R/NN        | 0,8783**             | 0,8644**             | 0,7824*              | 0,8416**             |
| CP normais<br>+<br>anormais<br>(ABRATES) | I/10        | 0,8551**             | 0,7581*              | 0,7441*              | 0,7928*              |
|                                          | A/10        | 0,8756**             | 0,7972*              | 0,7225*              | 0,8046**             |
|                                          | R/10        | 0,8758**             | 0,7976*              | 0,7220*              | 0,8345**             |
|                                          | I/NN + NA   | 0,8479**             | 0,7923*              | 0,6755*              | 0,8468**             |
|                                          | A/NN + NA   | 0,7246*              | 0,6831*              | 0,5210 <sup>NS</sup> | 0,7234*              |
|                                          | R/NN + NA   | 0,9244**             | 0,8752**             | 0,8245**             | 0,8550**             |

\*Significativo pelo teste de t a 5% de probabilidade; \*\* significativo pelo teste de t a 1% de probabilidade; <sup>NS</sup> não significativo pelo teste t.

Testes realizados em laboratório: Germinação (G); primeira contagem de germinação (PC); envelhecimento acelerado a 96 horas (EA 96); Envelhecimento Acelerado a 120 horas (EA 120); teste de frio (TF); condutividade elétrica (CE); massa seca (MS): MN/NN, MN/50, MN+MA/50 e MN+MA/NN+NA, onde, massa de plântulas normais (MN), massa de plântulas anormais (MA), número de sementes semeadas por repetição (50), número de plântulas normais (NN), número de plântulas anormais (NA); comprimento de plântulas CP (ISTA): CN/10, CN+CA/10, CN/NN e CN+CA/NN+NA, onde, comprimento de plântulas normais (CN), comprimento de plântulas anormais (CA), número de plântulas normais (NN), número de plântulas anormais (NA), número de sementes semeadas por repetição (10); comprimento de plântulas CP (ABRATES): I/10,

A/10, HR/10, I/NN, A/NN, HR/NN, I/10, A/10, R/10, I/NN+NA, A/NN+NA, R/NN+NA, onde, comprimento da plântula inteira (I), comprimento da parte aérea (A), comprimento do eixo hipocótilo-radicular (HR), número de sementes semeadas por repetição (10), número de plântulas normais (NN), número de plântulas anormais (NA). Emergência em campo: Jaboticabal-SP (J), Piracicaba-SP (P) e Fernandópolis-SP (F).

**Tabela 05.** Ordenação dos testes laboratoriais de acordo com valores decrescentes de correlação (r) com o desempenho germinativo dos lotes nas condições de campo.

| TESTE LABORATORIAL |                                                            | Correlação (r) com desempenho no Campo |
|--------------------|------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1                  | Teste de Frio                                              | 0,9640**                               |
| 2                  | Envelhecimento Acelerado a 96 Horas                        | 0,9448**                               |
| 3                  | Condutividade Elétrica                                     | 0,9328**                               |
| 4                  | Comprimento de Plântula (ISTA) CN+CA/NN+NA                 | 0,8979**                               |
| 5                  | Comprimento de Plântula (ISTA) CN/NN                       | 0,8970**                               |
| 6                  | Comprimento de Plântula (ISTA) CN/10                       | 0,8950**                               |
| 7                  | Comprimento de Plântula (ISTA) CN + CA/10                  | 0,8813**                               |
| 8                  | Comprimento de Plântulas Normais + Anormais R/NN + NA      | 0,8550**                               |
| 9                  | Comprimento de Plântulas Normais + Anormais I/NN + NA      | 0,8468**                               |
| 10                 | Teste Padrão de Germinação                                 | 0,8468**                               |
| 11                 | Comprimento de Plântulas Normais (Abrates) I/10            | 0,8447**                               |
| 12                 | Comprimento de Plântulas Normais (Abrates) R/NN            | 0,8416**                               |
| 13                 | Comprimento de Plântulas Normais + Anormais (Abrates) R/10 | 0,8345**                               |
| 14                 | Primeira contagem de germinação                            | 0,8065**                               |
| 15                 | Comprimento de Plântulas Normais + Anormais (Abrates) A/10 | 0,8046**                               |
| 16                 | Comprimento de Plântulas Normais (Abrates) R/10            | 0,8045**                               |
| 17                 | Comprimento de Plântulas Normais (Abrates) A/10            | 0,7948*                                |
| 18                 | Comprimento de Plântulas Normais + Anormais (Abrates) I/10 | 0,7928*                                |
| 19                 | Comprimento de Plântulas Normais (Abrates) A/NN            | 0,7923*                                |
| 20                 | Envelhecimento Acelerado a 120 Horas                       | 0,7914*                                |
| 21                 | Massa Seca MN/NN                                           | 0,7909*                                |
| 22                 | Comprimento de Plântulas Normais + Anormais A/NN + NA      | 0,7234*                                |
| 23                 | Comprimento de Plântulas Normais (Abrates) I/NN            | 0,7179*                                |
| 24                 | Massa Seca MN+MA/NN+NA                                     | 0,7129*                                |
| 25                 | Massa Seca MN/50                                           | 0,7066*                                |
| 26                 | Massa Seca MN+MA/50                                        | 0,4568 <sup>NS</sup>                   |

\*Significativo pelo teste de t a 5% de probabilidade; \*\* significativo pelo teste de t a 1% de probabilidade; <sup>NS</sup> não significativo pelo teste t.

MN: massa de plântulas normais; MA: massa de plântulas anormais; 10, 50: número de sementes semeadas por repetição; NN: número de plântulas normais; NA: número de plântulas anormais; CN:

comprimento de plântulas normais; CA: comprimento de plântulas anormais; I: comprimento da plântula inteira; A: comprimento da parte aérea; R: comprimento do eixo radicular.

**Tabela 06.** Avaliação do tempo gasto, em ordem crescente, para a completa condução dos testes laboratoriais, para as quatro repetições de cada lote de sementes de milho híbrido.

| Testes avaliados                   | Tempo total gasto      |
|------------------------------------|------------------------|
| Condutividade Elétrica             | 27 horas               |
| Primeira Contagem de Germinação    | 120 horas e 20 minutos |
| Comprimento de Plântulas (ISTA)    | 126 horas              |
| Comprimento de Plântulas (ABRATES) | 130 horas              |
| Massa de Matéria Seca              | 150 horas e 20 minutos |
| Envelhecimento Acelerado 96        | 264 horas              |
| Envelhecimento Acelerado 120       | 288 horas              |
| Teste Padrão de Germinação         | 195 horas e 15 minutos |
| Teste de Frio                      | 339 horas e 20 minutos |

No acompanhamento do teor de água das sementes de milho, antes e imediatamente após o envelhecimento acelerado nas duas metodologias de tempo de 96 e 120 horas (Tabela 1), verificou-se aumento, mais acentuado, no teor de água nas sementes.

Inicialmente, as sementes encontravam-se com teores de água variando de 10,95 a 11,83%, média de 11,39%. Após o envelhecimento acelerado à 96 horas o teor médio de água variou de 31,8% a 32,78%, média de 32,29%, e à 120 horas o teor médio de água variou de 38% a 38,65%, média de 38,32%.

Os testes que ocuparam os lugares de 4 a 16 são basicamente os testes que avaliam comprimento de plântulas a se destacar os padronizados pela ISTA, seguindo pelos métodos da Abrates com exceção do Teste Padrão de Germinação que ocupa a posição 10 (0,8468\*\*) e do Teste de Primeira Contagem de Germinação que ocupa a posição 14 (0,8065\*\*).

Os testes de maior sensibilidade então foram aqueles recomendados e de procedimento básico da ISTA, sendo eles Comprimento de Plântulas normais mais

anormais dividido pelo numero de plântulas normais mais anormais (CN+CA/NN+NA), seguido por comprimento de plântulas normais dividido por número de plântulas normais (CN/NN), comprimento de plântulas normais dividido por 10 (CN/10) e em sétima colocação o teste em que avaliamos plântulas normais mais comprimento de plântulas anormais dividido por 10 (CN + CA/10). As posições 11, 12, 13, 15 e 16 na tabela 05 são testes que utilizam o procedimento da ABRATES, onde se considerou comprimento de plântulas normais e anormais, tanto em parte aérea como eixo radicular, onde os valores se concentraram entre 0,8447\*\* e 0,8045\*\* respectivamente.

Confirma-se então que os procedimentos dos itens 04 a 16 que mensuram plântulas normais quanto anormais da tabela 5, os testes Padrão de Germinação e Primeira contagem de germinação, todos seguem recomendações da ISTA e ABRATES.

Observa-se que os testes recomendados pela ISTA, pelos quais se obtém não o comprimento real da plântula, mas um índice de tamanho, demonstraram alta sensibilidade.

Os coeficientes de correlação destes testes comparados com o desempenho germinativo dos lotes em campo e com os testes de frio, envelhecimento acelerado a 96 horas e condutividade elétrica foram todos significativos e demonstraram alta sensibilidade na predição do desempenho da sementes.

A explicação que se supõe para resultados tão favoráveis é a de que este teste, da forma como é conduzido, presta-se mais para sementes de germinação hipógea e, talvez, de forma mais específica ainda, para o tipo de germinação hipógea das gramíneas, como no caso do milho híbrido.

Este teste foi inicialmente desenvolvido para sementes de cevada (PERRY, 1972) e, atualmente, é indicado pela ISTA (1996) para trigo, milho, aveia, festuca e azevém, ou seja, todas as sementes cuja parte aérea, durante a emergência da plântula, desenvolve-se em torno de um eixo que se projeta de forma geotropicamente negativa, isto é, em direção à superfície do solo, na forma característica da germinação hipógea das gramíneas.

Com um desenvolvimento em linha reta, axial, da parte aérea da plântula, da maneira como o rolo de papel é colocado dentro do germinador, provavelmente encontra pouco ou nenhum obstáculo mecânico à sua frente o que propicia uma facilitação na determinação de seu comprimento.

Os demais testes que seriam do número 17 a 25 apresentaram os coeficientes de correlação de significância ao nível de 5% de probabilidade, ou seja, seriam testes de sensibilidade inferior aos dos resultados obtidos nos testes 1 a 16. Supõem-se então que os testes de Comprimento de Plântulas da Abrates (A/10), (I/10), (A/NN) e (I/NN) apresentam uma sensibilidade inferior aos testes de descritos entre 1 e 16 sendo portanto de menor capacidade de indicação quanto aos testes de campo.

O testes de matéria seca incluindo o teste de menor sensibilidade MN+MA/50 ( $0,4568^{ns}$ ) foram de forma bem geral os menos sensíveis se enquadrando entre as posições 21( $0,7909^*$ ) a 26( $0,4568^{ns}$ ).

O teste de Envelhecimento Acelerado com duração de 120 horas á  $42^{\circ}\text{C}$  apresentou-se com uma baixa capacidade de predizer os resultados de campo, pois o processo de deterioração foi muito acentuado pela exposição da semente a alta temperatura e umidade.

Para Tomes et. al. (1988), a elevação na temperatura promove redução mais drástica na germinação do que o prolongamento do período de exposição das sementes ao envelhecimento.

Marcos Filho (1999) defende que essa idéia é importante, pois em se tratando de empresa produtora de sementes, a obtenção de resultados em períodos mais curtos é fundamental para as tomadas de decisão internas.

Como citado acima foi realizado o acompanhamento dos teores de água da semente após a realização dos testes como já citado onde os maiores teores se enquadrarão entre  $38,00$  e  $38,65^{\circ}\text{C}$  com uma média de  $38,32^{\circ}\text{C}$  para o teste de Envelhecimento Acelerado a 120 horas. Tomes et al.,(1988) constataram que a elevação da temperatura promove efeitos mais drásticos sobre a germinação que o prolongamento do período de envelhecimento artificial. Isso sugere, pelo menos,

a necessidade de atenção especial ao monitoramento da temperatura durante o teste, para que sejam obtidos resultados seguros.

O monitoramento do teor de água das sementes após o envelhecimento é um bom procedimento para averiguar se o teste deve ser refeito ou não (TOMES et al., 1988), pois se valores maiores ou menores ocorrem, isto pode significar sementes com maior ou menor grau de deterioração, respectivamente (HAMPTON & TEKRONY, 1995).

O teor de água das sementes, por ocasião da realização da condutividade, é um fator de extrema importância na padronização da metodologia do teste, bem como no sentido de possibilitar a obtenção de resultados uniformes entre laboratórios e dentro de um laboratório, quando há mais de uma pessoa realizando o teste (ABRATES, 1999).

Em geral, tem-se verificado que teores de água muito baixos menor ou igual a 10%, ou muito alto, maior ou igual a 17%, apresentam influência significativa nos resultados da condutividade e que, portanto, devem ser ajustados para uma faixa de teor de água entre 10% e 17% (Tao, 1978b; AOSA, 1983; Loeffler et al., 1988; Hampton et al., 1992; Carvalho, 1994; Penariol, 1997). Efeito maior tem sido observado quando o teor de água é muito baixo (menor ou igual a 10%), causando aumento extremamente significativo nos resultados da condutividade elétrica de sementes de várias espécies.

Constata-se então relativa uniformidade do teor de umidade entre os lotes, o que é considerado uma premissa para se obter resultados confiáveis neste teste, uma vez que segundo Marcos Filho et al. (1987), quanto maior o teor de água das sementes, maiores serão os efeitos deletérios deste teste.

O teste padrão de germinação que se estabeleceu em décimo lugar. Ainda que, formalmente, não seja considerado como um teste de vigor é, sem dúvida, o teste que mais recebe atenção da comunidade mundial de pesquisadores em Tecnologia de Sementes e, ao mesmo tempo, o mais utilizado por empresas produtoras de sementes, tendo em vista tratar-se, acima de tudo, de teste

obrigatório do processo de Certificação para fins de comercialização de sementes.

A intensa utilização do teste padrão de germinação e a padronização de seus procedimentos oferecem uma facilitação no que diz respeito a sua utilização mundial por produtores e empresas na relação de julgar um comparativo quanto a avaliação do desempenho germinativo de sementes sob condições de campo.

Contudo vários pesquisadores enfatizam a importância de se desenvolver trabalhos e pesquisas que venham a justificar a investigação sobre testes de vigor tendo em vista a precária sensibilidade do teste padrão de germinação para fins de prever o comportamento de lotes no campo (MCDONALD, 1993; BOERSMA et al., 1999; ELIAS & COPELAND, 1997).

Brown & Mayer, (1986) comentam que o teste de primeira contagem, conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), é procedimento encarado como parte do teste padrão de germinação, sendo, contudo, considerado também como um teste de vigor, onde observamos as semelhanças com o comprimento de plântula, porém classificado neste trabalho como teste de colocação número 14 por ter obtido uma correlação de 0,8065\*\* e considerado de alta sensibilidade.

Nakagawa (1999) relata que por se tratar de uma contagem das plântulas normais obtidas em um teste padrão de germinação, a primeira contagem é vista como um teste de avaliação da velocidade de germinação das sementes. Tratando-se de um teste que é parte de um procedimento padronizado, o da primeira contagem poderia ser encarado como um dos testes de vigor de mais alto potencial de padronização.

Os testes de determinação do conteúdo de matéria seca estiveram, de maneira geral, entre os menos sensíveis.

De qualquer maneira, o que esses resultados parecem estar indicando é que, dentre os testes de avaliação de plântulas, aqueles procedimentos pelos quais se mede diretamente o comprimento da plântula, ou de parte dela, são mais

sensíveis do que aqueles em que se determina a massa de matéria seca para sementes de milho híbrido.

Outra indicação dada por esses resultados parece ser a de que a inclusão das plântulas anormais não levaria a um aumento na sensibilidade do teste, o que contraria dados de Vanzolini et al. (2007).

Na análise dos testes laboratoriais, conforme explicitado em Material e Métodos consistiu na avaliação do tempo gasto para a completa realização de cada um deles, na suposição de que o tempo necessário para executar um teste poderia também se constituir em ferramenta de análise pelas empresas produtoras de sementes na decisão de adotá-lo ou não em seus procedimentos de rotina.

Os resultados apresentados na Tabela 6 mostram, portanto, que o teste de condutividade elétrica seria uma das melhores opções a ser feita por uma empresa produtora de sementes, que não somente esse teste mostrou uma alta sensibilidade ( $r = 0,9328$ ) na previsão do desempenho germinativo de lotes de sementes sob condições de campo (Tabela 4 e 5) como, também, foi o de mais rápida execução, ou seja, pouco mais do que um dia.

O teste de frio deu o maior coeficiente de correlação (0,9640), isto é, uma capacidade próxima da perfeição em prever o desempenho germinativo de um lote no campo, mas as 339 horas necessárias para a sua completa execução poderia torná-lo inadequado para uma empresa produtora de sementes. Há de se relevar que o método de “terra em caixa” encontra sérios entraves à padronização, pois requer o uso de maior quantidade de substrato, quando comparado com outros métodos. A mistura areia/terra na proporção 2:1 ou 3:1, geralmente é colocada em caixas plásticas (47 x 30 x 11cm) ocupando um volume de, aproximadamente, 12.000 cm<sup>3</sup> e peso em torno de 16 kg, como citado na revisão deste trabalho.

Desta forma, além da desuniformidade causada pela origem da “terra”, surgem outros problemas causados pela distribuição desuniforme de água no substrato, pelo período necessário para o substrato atingir a temperatura desejada (10°C) e, também, pelo manuseio das caixas, que apresentam peso relativamente

elevado. Outra preocupação decorrente desse procedimento refere-se à disposição das caixas no interior da câmara fria; geralmente são superpostas formando pilhas e, desta forma, o resfriamento do substrato pode não ocorrer de maneira uniforme inter e intra-caixas. Tais fatores podem influenciar acentuadamente a resposta das sementes ao teste de frio, colocando em dúvida a confiabilidade e reprodutibilidade do procedimento.

Esse trabalho vem a identificar que os testes mais utilizados hoje por produtores e por empresas são os mais confiáveis para determinação do nível de vigor da semente, com fidelidade a interpretação do desempenho destas sementes em relação ao seu desempenho em campo, onde se deve atentar para os padrões metodológicos adotados para um mesmo teste.

Caso a empresa produtora de semente não se onere com o tempo de execução do teste de vigor a opção do teste de envelhecimento acelerado e teste de frio, e principalmente este se torna opções capazes de proporcionar um grau muito alto de segurança para a empresa produtora de sementes nas suas previsões de desempenho de lotes no campo bem como acompanhados dos testes em classificação de sensibilidade do número 4 a 16, classificados na tabela 5.

Segundo estritas recomendações da ISTA, da AOSA ou da ABRATES, os testes de avaliação de plântulas, fazendo uso ou não das alternativas investigadas neste trabalho, levaram, todos, entre 126 e 150 horas e 20 minutos, isto é, aproximadamente entre 5 e 6 dias para a sua completa execução; ou seja, tratam-se de testes demorados. Por outro lado, a mensuração da plântula, ou de parte dela, são procedimentos operacionalmente difíceis de serem executados.

Os níveis de sensibilidade destes testes comprovaram sua eficácia quando ao desenvolvimento da semente em campo, sendo de extrema importância sua incorporação como testes de alto nível de qualidade, que dêem apoio a confirmação de resultados de testes de qualidade.

Assim como a determinação do conteúdo de matéria seca da plântula não obteve resultados satisfatórios para a classificação de sementes de milho, á de se

efetuar mais pesquisas que possam definir padrões de execução desse teste já que a massa está diretamente ligada ao potencial fisiológico da semente, não se sabe definir o porquê dos testes não terem sido tão significativamente exatos.

## 5. CONCLUSÃO

As pesquisas realizadas durante esse trabalho recomendam que os testes de vigor que tem maior sensibilidade em demonstrar ou predizer o desempenho das sementes de milho híbrido em campo são os testes de Frio, Envelhecimento Acelerado a 96 horas/42°C e o teste de condutividade elétrica.

Salienta-se a importância dos testes que avaliam as plântulas recomendados pela ISTA e ABRATES que têm se constituído em ferramentas de uso cada vez mais rotineiro pela indústria de sementes para a determinação da qualidade fisiológica.

Certamente, a pesquisa deve oferecer retaguarda para o esclarecimento de dúvidas remanescentes como as combinações temperatura/tempo de exposição e execução dos testes para sementes de milho, a fim de se definir metodologias mais exatas, seguras e padronizadas.

## 6. REFERÊNCIAS

- AOSA.. Association of Official Seed Analysts.. **Seed vigor testing handbook**. East Lansing, AOSA, 1983. 88p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS – AOSA. **Seed vigor testing handbook**. East Lansing: AOSA, 1983. 93p.
- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 3.ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247p.
- BARROS, A.S. do R. **Testes para avaliação rápida da viabilidade e do vigor desementes de soja (Glycine max (L.) Merrill)**. Piracicaba, 1988. 140p. (Mestrado - ESALQ/USP).
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: Physiology of development and germination**, New York: Plenum Press, 1985. 367 p.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília : SNAD/CLAV, 1992. 365p.
- CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: Funep, 1994. p. 1-30.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. (Ed.) **Sementes: ciências, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- CARVALHO, N.M.; VANZOLINI, S. Considerações sobre o vigor de sementes e o desenvolvimento de novas tecnologias para sua avaliação. **Informativo ABRATES**, v.14, n.1,2,3, 2004.
- CÍCERO, S. M.; VIEIRA, R. D. Teste de frio. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 151-164.
- DELOUCHE, J.C. Standardization of vigor tests. **Journal of Seed Technology**, Spring Field, v. 1, n.2, p. 75-85, 1976.
- DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Teste de vigor baseados na permeabilidade de membranas celulares: II Lixiviação de potássio. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 5, n. 1, p. 37-41, 1995a.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão. **Recomendações Técnicas para cultivo do feijoeiro**. 2. ed. Goiânia: Embrapa CNPAF, 1985. 40 p. (Circular Técnica, 13).

FRANCK, W.J. **Address to the Association of Official Seed Analysts**. Proc. Assoc. Offic. Seed Anal., v. 40, p. 36-39, 1950.

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

FURLAN, S. H. **Efeito de regiões e épocas de produção na qualidade de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Estado de São Paulo**. 1986. 130 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1986.

HAMPTON, J. G.; JOHNSTONE, K. A.; EUA-UMPON, V. Bulk conductivity test variables for mungbean, soybean and French bean seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 20, n. 3, p. 677–686, 1992.

HEPBURN, H.A.; POWELL, A.A. ; MATTHEWS, S. Problems associated with the routine application off electrical conductivity measurements of individual seeds in the germination testing of peas and soybeans. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 12, p.403-13, 1984.

**Informativo ABRATES**, Brasília, v. 5, n. 3, p. 39-52, 1995.

ISTA. International Rules for Seed Testing. Basseldorf, Switzerland, **International Seed Testing Association**, 303 p., 2006.

KRZYZANOWKI, F.C.; VIEIRA, R.D. Deterioração controlada. In: KRZYZANOWKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.61 -68.

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

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W. R. da. **Avaliação da qualidade de sementes**, Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.

MATTHEWS, S.; Controlled deterioration: a new vigour test for crop seeds. In: Habbethwaite, P.D. (ed.). **Seed production**. London, p.647-660, 1980.b

McDONALD Jr., M.B. A review and evaluation of seed vigor testes. **Proc. Assoc. of Off. Seed Anal.**, Lansing, v. 65, p. 109-139, 1975.

MENTEN, J. O. M. Importância do tratamento de sementes. In: \_\_\_\_\_. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: FEALQ, 1991a. p. 203–217.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Ed.) **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994, P. 48-85.

NAKAGAWA, N.; CAVARIANI, C.; GUISCHEM, J.M. Efeito da adubação fosfatada e potássica no teste de condutividade elétrica de sementes de aveia-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.2, p.302-308, 2001.

NASCIMENTO, W.M.; BARROS, B.C.G.; PESSOA, H.B.S.V. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.15, n.2, p.251-253, 1993.

NOVEMBRE, A. D. L. C. **Avaliação da qualidade de sementes**, Londrina. 2001.

PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.2, p.306-310, 1998.

PERRY, D. A. Seed vigor and field establishment. **Horticultural Abstracts**; v. 42, n. 2, p. 334 - 342, 1972.

PERRY, D.A. A vigor test for seeds of barley (*Hordeum vulgare*) based on measurement of plumule growth. **Seed Science and Technology**, vol. 5, p. 709 – 719, 1977.

PERRY, D.A. Report of the vigour test committee 1977-1980. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 9, n. 1, p. 115-126, 1981.

POWELL, A. A. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed sowing. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v. 10, n. 2, p. 81-100, 1986.

**Seed Science and Technology**, Zürich, v.23, n.3, p.665-72, 1995.

**Seed Testing Association**, Zürich, v.32, p.553-563, 1967.

TEKRONY, D. M. Seed vigor testing. **Journal of Seed Technology**. v. 8, n. 1, p. 55 – 60, 1982.

TOLEDO, F. F.; MARCOS FILHO, J. **Manual de sementes: tecnologia da produção**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977. 224p.

TOMES, L.J.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B. Factors influencing the tray accelerated aging test for soybean seed. **Journal of Seed Technol**, Lincoln, v.12, n.1, p.24- 36, 1988.

VANZOLINI, S. **Relações entre o vigor e testes de vigor com o desempenho das sementes e das plantas de soja (Glycine Max (L.) Merrill) em campo**.

2002. 95f. Tese (Doutorado em Produção e Tecnologia de Sementes)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: Funep, 1994. p. 103–139.

VON PINHO, E. V. R.; CAVARIANI, C. ALEXANDRE, A. D.; MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D. Efeitos do tratamento fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 23–28, 1995.

WETZEL, M. M. V. S. Fungos de armazenamento. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. **Patologia de Sementes**. Campinas: Fundação Cargill. 1987. p. 260–275.

ZAMBOLIM, L. **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa: UFV, 2005. 502p.