

CRISTINA RODRIGUES MENDES

**ATIVIDADE RESPIRATÓRIA COMO MÉTODO ALTERNATIVO NA
DIFERENCIAÇÃO DO VIGOR DE LOTES DE SEMENTES**

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

Orientador: Dario Munt de Moraes

Co-Orientador: Nei Fernandes Lopes

Pelotas, 2008

CRISTINA RODRIGUES MENDES

Banca examinadora:

Prof. Dr. Dario Munt de Moraes (Orientador)

Prof. Dr. Nei Fernandes Lopes (Co-orientador)

Prof. Dr. Luciano do Amarante

Prof.^a Dr.^a Claudete Miranda Abreu

Prof. Dr. Wolmer Brod Peres

À Deus

Aos meus pais Nilva (*in memorium*) e Divino

Aos meus irmãos

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Pelotas pela oportunidade de participar do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo.

Ao Laboratório Didático de Análise de Sementes da FAEM, pelo fornecimento de sementes para a realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Dario Munt de Moraes pela orientação, incentivo e amizade, sem sua contribuição não seria possível à conclusão deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Nei Fernandes Lopes pela co-orientação, amizade e ensinamentos transmitidos.

As amigas Maria da Graça de Souza Lima e Claudete Miranda Abreu, pelo auxílio, encorajamento e amizade em todos os momentos.

Aos colegas de Pós-graduação, pela agradável convivência e apoio.

Aos funcionários do Instituto de Biologia Suzi, Luisa, Rudinei e Honório pela colaboração e amizade.

Aos demais professores, colegas e funcionários do Instituto de Biologia pela agradável convivência.

Aos meus familiares, pelo incentivo e compreensão em todos os momentos.

Lista de Figuras

- Figura 1 - Aparelho de Pettenkoffer
- Figura 2 - Atividade respiratória média de lotes de sementes de soja cultivar 8000, determinada pela quantidade de CO₂ liberada
- Figura 3 - Atividade respiratória média de lotes de sementes de arroz cultivar IRGA 422CL determinada pela quantidade de CO₂ liberada.

Lista de Tabelas

- Tabela 1 - Grau de umidade médio de três lotes de sementes de soja cultivar 8000 e de arroz cultivar IRGA 422CL
- Tabela 2 - Germinação (TG), primeira contagem da germinação (PCG) e condutividade elétrica (CE), três e 24 horas de embebição, em três lotes de sementes de soja cv 8000
- Tabela 3 - Germinação (TG), primeira contagem da germinação (PCG) e condutividade elétrica (CE), três e 24 horas de embebição, em três lotes de sementes de arroz cv. IRGA 422CL
- Tabela 4 - Emergência (E), comprimento da parte aérea (CPA) e raiz (CR) e massa seca total (MST) de plântulas de soja cv. 8000 crescidas em casa de vegetação, provenientes de três lotes de sementes
- Tabela 5 - Emergência (E), comprimento da parte aérea (CPA) e raiz (CR) e massa seca total (MST) de plântulas de arroz cv. IRGA 422CL crescidas em casa de vegetação, provenientes de três lotes de sementes

ÍNDICE

RESUMO.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS	6
RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
CONCLUSÕES	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17

RESUMO

MENDES, CRISTINA RODRIGUES, D.SC., Universidade Federal de Pelotas, Março, 2008. **Atividade respiratória como método alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes.** Orientador: Prof. Dr. Dario Munt de Moraes, co-orientador: Prof. Dr. Nei Fernandes Lopes.

Novos métodos na avaliação da qualidade fisiológica são uma necessidade em programas de controle de qualidade de sementes. Portanto, este trabalho teve por objetivo descrever e analisar a eficiência do método de Pettenkofer na determinação da atividade respiratória para a diferenciação de lotes de sementes quanto ao vigor. Três lotes de sementes de soja cv. 8000 e de arroz cv. IRGA 422CL foram utilizados. Além da determinação da atividade respiratória, foram realizados os seguintes testes de referência: grau de umidade, germinação, primeira contagem da germinação, condutividade elétrica, emergência de plântulas, comprimento de parte aérea, raiz e massa seca total. Os resultados dos testes de referência e da atividade respiratória das sementes permitiram a classificação dos lotes em diferentes níveis de qualidade fisiológica. O tempo de embebição e de permanência das sementes de soja e arroz no aparelho de Pettenkofer foi suficiente para proporcionar a distinção de lotes em alto, médio e baixo vigor bem como, o método foi eficaz para determinar a atividade respiratória, servindo como teste alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes de soja cv. 8000 e de arroz cv. IRGA 422CL.

Termos para indexação: aparelho de Pettenkofer, qualidade fisiológica, respiração, semente

ABSTRACT

MENDES, CRISTINA RODRIGUES, D.SC., Federal University of Pelotas, March, 2008. **Respiratory activity as alternative method for the differentiation of vigor on seeds lots.** Advisor: Prof. Dr. Dario Munt de Moraes. Comit e: Prof. Dr. Nei Fernandes Lopes.

New methods in assessing the physiological quality are a necessity in programmes of seeds quality control. Thus, this study aimed to describe and analyze the efficiency of the method of Pettenkofer in determining the respiratory activity for the differentiation of seeds lots on its vigor. Three lots of soybean seeds cv. 8000 and rice cv. IRGA 422CL were used. Besides the determination of respiratory activity, the following tests were conducted as reference: degree of humidity, germination, first count of germination, electrical conductivity, seedlings emergence, length of the shoot and root, and total dry mass. The results of reference tests and respiratory activity of seeds allowed the classification of lots at different levels of physiological quality. The timing of soaking and permanence of soybean and rice, in the equipment of Pettenkofer was enough to provide the distinction of lots in high, medium and low vigor. The method was effective in determining the respiratory activity, serving as an alternative test for the differentiation of vigor of lots, of soybean seeds cv. 8000 and rice cv. IRGA 422CL.

Index terms: Pettenkofer equipment, physiological quality, respiration, seed

INTRODUÇÃO

A qualidade da semente pode ser conceituada como o somatório dos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a capacidade de originar plantas com maior produtividade. A alta qualidade da semente reflete diretamente na cultura resultante, em termos de uniformidade da população, da ausência de moléstias transmitidas pela semente, do alto vigor das plantas e da maior produtividade (POPINIGIS, 1977; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). Os quatro componentes básicos da qualidade das sementes apresentam importância equivalente, mas o potencial fisiológico geralmente desperta atenção especial da pesquisa, no sentido de elucidar os mais variados aspectos referentes a este, que reúne informações sobre a viabilidade e o vigor das sementes (MARCOS FILHO, 2005).

A avaliação da qualidade fisiológica das sementes é realizada principalmente pelo teste de germinação, porém este apresenta limitações por fornecer resultados que superestimam o potencial fisiológico das sementes, devido ao fato de ser conduzido sob condições consideradas ótimas. O teste de germinação permite que as sementes expressem seu potencial máximo de germinação sob condições controladas em laboratório. No entanto, no campo as sementes estão submetidas a variações na umidade do solo, na radiação e a competição, condições desfavoráveis para que a semente expresse todo o seu potencial germinativo (HILHORST et al., 2001). Portanto, a validade deste teste para prever o comportamento das sementes no campo, onde as condições ideais do ambiente dificilmente ocorrem, é questionada (BYRUM e COPELAND, 1995).

A inadequação do teste de germinação para estimar a emergência das plântulas em campo, sob condições adversas do ambiente, estimulou

o desenvolvimento de conceitos de vigor e novos testes foram desenvolvidos para aumentar a eficiência da avaliação da qualidade das sementes (MCDONALD JUNIOR e WILSON, 1979).

O vigor é definido pela Association of Official Seed Analysis (AOSA, 1983) como as propriedades da semente que determinam o potencial para emergência rápida e uniforme com o crescimento de plântulas normais, sob ampla faixa de condições do ambiente. Os testes de vigor têm como objetivos básicos detectar diferenças significativas na qualidade fisiológica de lotes com alta germinação, distinguir lotes de alto e baixo vigor, e separar lotes em diferentes níveis de vigor de maneira proporcional à emergência em campo, resistência ao transporte e potencial de armazenamento (MARCOS FILHO, 2005; PESKE et al., 2006). Os métodos para a avaliação do vigor podem ser classificados em diretos, quando realizados no campo ou em condições de laboratório que simulem fatores adversos de campo; ou indiretos, quando realizados em laboratório, mas avaliando as características físicas, fisiológicas e bioquímicas que expressam a qualidade das sementes (FERREIRA e BORGHETTI, 2004). De modo geral, o baixo vigor das sementes é associado a reduções na velocidade e desuniformidade na emergência e a diminuições no tamanho inicial das plântulas, na produção de massa seca, na área foliar e conseqüentemente nas taxas de crescimento da cultura (SCHUCH et al., 2000; MACHADO, 2002; HÖFS, 2003; KOLCHINSKI, 2003).

A causa de falhas ou redução na velocidade de emergência é freqüentemente atribuída ao baixo vigor associado ao processo de deterioração das sementes (ROSSETTO et al., 1997). O vigor e a deterioração das sementes estão fisiologicamente ligados, sendo aspectos recíprocos de qualidade, onde a deterioração tem conotação negativa, enquanto o vigor tem conotação extremamente positiva, pois são inversamente proporcionais (DELOUCHE, 2001). A semente não inicia o processo de deterioração antes de atingir a maturidade, porque ainda não constitui uma unidade independente da planta-mãe. No entanto, condições de ambiente desfavoráveis durante a maturação podem determinar a formação de sementes com potencial fisiológico deficiente (MARCOS FILHO, 2005).

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

Na tentativa de padronização dos testes de vigor são encontradas certas dificuldades, tendo em vista que o vigor pode ser refletido por intermédio de várias características como velocidade de germinação, uniformidade de emergência de plântulas, resistência ao frio e etc (PÁDUA, 1998). De qualquer maneira, são considerados eficientes os testes que permitem separar os lotes em diferentes categorias de vigor, principalmente quando possuem poder germinativo semelhante, desde que essas informações correspondam ao mesmo grau de separação proporcionado pela emergência das plântulas em campo (ROSSETTO e MARCOS FILHO, 1995; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

A análise da qualidade fisiológica de sementes deve ser vista como uma atividade dinâmica, que apresente evolução constante, tanto pelo aprimoramento dos meios disponíveis para a avaliação da qualidade das sementes como pela incorporação de novos métodos (NOVEMBRE, 2001).

O maior interesse atualmente, ao avaliar a qualidade fisiológica das sementes, é a obtenção de resultados confiáveis em período de tempo relativamente curto. A rapidez nesta avaliação permite a pronta tomada de decisões durante diferentes etapas da produção de sementes, especialmente entre a fase de maturação e a futura semeadura (DIAS e MARCOS FILHO, 1996). Os testes para a avaliação rápida da viabilidade ou do vigor representam importantes componentes em programas de controle de qualidade de sementes, permitindo agilizar a obtenção de informações, mediante o descarte de lotes de qualidade inferior durante a fase de recepção na unidade de beneficiamento e a racionalização do manejo, com o uso mais eficiente da infra-estrutura disponível (MARCOS FILHO, 2005).

Os testes rápidos mais estudados estão relacionados com os eventos iniciais da seqüência de deterioração (DELOUCHE e BASKIN, 1973) como a degradação das membranas celulares, redução da atividade respiratória e diminuição da biossíntese (DIAS e MARCOS FILHO, 1996). Geralmente, são baseados na coloração dos tecidos vivos das sementes (tetrazólio), ou na permeabilidade das membranas (condutividade elétrica). A maioria dos métodos apresenta certas limitações de ordem prática, técnica ou econômica, mas todos apresentam potencialidades variáveis, que precisam ser trabalhadas, mesmo porque a pesquisa relativa a testes rápidos, ainda, não foi completamente esgotada (AMARAL, 1994).

O teste de condutividade elétrica por ser rápido e prático é dos mais utilizados para a determinação do vigor, sendo avaliado indiretamente comparando a

quantidade de lixiviados liberados internamente da semente para a solução de embebição. O teste de emergência das plântulas em campo, também denominado de população inicial ou estande inicial, visa determinar o vigor do lote de sementes, avaliando a porcentagem de emergência em condições de campo. Os testes baseados no desempenho ou características de plântulas como a primeira contagem da germinação, onde é avaliada a porcentagem de plântulas normais que são obtidas por ocasião da primeira contagem do teste de germinação na amostra em análise e o comprimento de plântulas são eficientes para determinar o vigor das sementes (NAKAGAWA, 1999).

Dentre os vários procedimentos utilizados na determinação do vigor, uma das alternativas seria submeter as sementes a medição da atividade respiratória em condição de laboratório. A respiração é a oxidação de substâncias orgânicas num sistema celular com a liberação gradativa de energia, por meio de uma série de reações, tendo oxigênio molecular como acceptor final de elétrons. Os substratos respiratórios podem ser carboidratos como amido, sacarose, frutose, glicose e outros açúcares; lipídios, principalmente os triglicerídeos, ácidos orgânicos e proteínas (TAIZ e ZEIGER, 2004; MARENCO e LOPES, 2007).

A primeira atividade metabólica, acompanhando a reidratação da semente, é o aumento da respiração que, de valores ínfimos, sobe a níveis bem elevados, pouco tempo após o início da embebição (POPINIGIS, 1977; FERREIRA e BORGHETTI, 2004). As mitocôndrias são muito resistentes ao período de dessecação podendo, rapidamente, restabelecer a produção de ATP durante a embebição, a qual é extremamente baixa em sementes secas (PESKE et al., 2006). A concentração de ATP é dependente de oxigênio e constitui na “moeda energética” das células. É por isso que o embrião deve manter, sempre, uma quota de ATP disponível para o seu desenvolvimento. Quando a entrada de oxigênio na semente é restringida pelo tegumento, a geração de ATP é feita por meio da glicólise e/ou da respiração anaeróbica. Nesses casos, a respiração aeróbica irá começar somente com a emissão da radícula, quando ela entrar em contato com a atmosfera. O ATP e o NADH, produtos da respiração, serão utilizados para a síntese de DNA, RNA, proteínas e outros componentes necessários à produção de novas células e novos tecidos (PESKE et al., 2006). Portanto, a respiração, a atividade de enzimas e de organelas e a síntese de proteínas são eventos fundamentais para o

desenvolvimento normal do processo de germinação e preparo para o crescimento subsequente do embrião (MARENCO e LOPES, 2007).

O aumento da atividade respiratória da semente pode ser avaliado pela quantidade de gás carbônico (CO_2) eliminado, pela quantidade de oxigênio (O_2) absorvida ou pelo quociente respiratório (Q_R). A velocidade respiratória da semente é influenciada pelo seu teor de umidade, pela temperatura, permeabilidade das membranas, pela tensão de oxigênio e luz (POPINIGIS, 1977).

A respiração implica na perda de massa seca e em trocas gasosas, sendo os métodos utilizados para medir a respiração baseados na determinação dessas características, no entanto a medida da variação de massa seca requer grande quantidade de material e implica na sua destruição (MARENCO e LOPES, 2007). Os métodos baseados em trocas gasosas são mais sensíveis, requerem menos material e não são destrutivos, podendo consistir na medição manométrica do O_2 consumido, por exemplo respirômetro de Warburg e no eletrodo de Clark (potenciometria), ou na medição de CO_2 liberado, utilizando métodos físicos como o analisador de gás infravermelho (IRGA), ou físico-químicos que se baseiam na retenção de CO_2 em uma base e em sua determinação por titulometria, calorimetria ou condutivimetria (MAESTRI et al., 1998).

Dentre as diferentes formas de verificação da qualidade fisiológica em sementes, o processo de respiração merece atenção, pela alta relação entre este fenômeno e a qualidade da semente. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi analisar e descrever a possibilidade da utilização do método físico-químico de Pettenkofer na determinação da atividade respiratória de sementes como método alternativo capaz de separar em curto espaço de tempo lotes de sementes com alto, médio e baixo vigor, visando oferecer um novo teste econômico e de fácil manipulação para uso em laboratório de sementes, bem como verificar a sua relação com os demais testes de vigor.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Sementes e em casa de vegetação do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pelotas. Para tal utilizou-se três lotes de sementes de soja cultivar 8000 e de arroz cultivar IRGA 422CL, obtidos junto ao Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da UFPel. Com o objetivo de caracterizar a qualidade fisiológica dos lotes e determinar a atividade respiratória, relacionando esta com outros testes de vigor, os lotes foram submetidos aos seguintes testes padrão: grau de umidade, germinação, primeira contagem da germinação, condutividade elétrica, emergência de plântulas em casa de vegetação, comprimento da parte aérea e da raiz, e massa seca total das plântulas. Os testes de viabilidade, vigor e atividade respiratória das sementes foram conduzidos em cada lote, conforme descritos a seguir:

Grau de umidade (U) - determinado pelo método de estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$, por 24 horas, de acordo com as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 1992). Esta determinação foi feita em duas repetições de aproximadamente cinco gramas de sementes, para cada lote, e os resultados expressos em porcentagem média; **teste de germinação (TG)** - realizado com três repetições de 200 (quatro subamostras de 50) num total de 600 sementes por lote de soja e três repetições de 400 (quatro subamostras de 100) totalizando 1200 sementes por lote de arroz. As sementes foram distribuídas em papel germitest, umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco e mantido em germinador à temperatura de 25°C .

A contagem final da germinação foi realizada no oitavo dia após a semeadura nos lotes de soja e no 14º dia nos lotes de arroz, conforme as RAS (BRASIL, 1992) e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais; **primeira contagem da germinação (PCG)** - teste desenvolvido juntamente com o teste de germinação. Constatou-se o registro da porcentagem de plântulas normais no quinto dia após a instalação do teste nos lotes de soja e no sétimo dia nos lotes de arroz; **condutividade elétrica (CE)** - com três repetições de 100 (quatro subamostras de 25) totalizando 300 sementes por lote de soja e três repetições de 200 (quatro subamostras de 50) totalizando 600 sementes por lote de arroz. Após aferida a massa, as sementes foram colocadas para embeber em béquer contendo 80mL de água deionizada, agitadas levemente para que todas fossem completamente submersas e depois mantidas em germinador a temperatura de 20°C, até completar três e 24 horas. A cada período foram feitas a leitura da CE da água de embebição em condutivímetro modelo Digimed CD-21 e os resultados expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de semente em função da massa inicial das sementes utilizadas (AOSA, 1983); **emergência de plântulas em casa de vegetação (E)** – tanto as sementes de soja quanto as de arroz foram semeadas em bandejas em casa de vegetação, sendo o substrato areia lavada, com três repetições de 200 (quatro subamostras de 50) num total de 600 sementes para cada lote. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas emergidas aos 21 dias; **comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz (CR) das plântulas** - compreendeu a coleta de 10 plântulas, de cada repetição, aos 21 dias da instalação do experimento. O valor de CPA e CR foi dividido pelo número de plântulas e os resultados expressos em mm plântula^{-1} ; **massa seca total (MS)** – as mesmas 10 plântulas coletadas de cada repetição foram colocadas em estufa de ventilação forçada a $70 \pm 2^\circ\text{C}$ até massa constante, aferindo-se a mesma por gravimetria e o resultado expresso em mg plântula^{-1} ; **atividade respiratória (AR)** - a liberação de CO_2 pelas sementes foi medida pelo aparelho de Pettenkofer (Figura 1), o qual é constituído por dois frascos lavadores de gases contendo hidróxido de sódio (NaOH) a 25%, que tem por finalidade reter o CO_2 do ar ambiente; um frasco para armazenamento das sementes em estudo isento de CO_2 do ar ambiente e um frasco contendo hidróxido de bário $\text{Ba}(\text{OH})_2$, o qual reage com o CO_2 proveniente da atividade respiratória das sementes, resultando em um precipitado branco, o carbonato de bário (BaCO_3). Os frascos são interligados por uma mangueira de silicone que esta acoplada a uma trompa

aspiradora de ar. O fluxo de ar é regulado por uma torneira, permitindo a regulação de sua velocidade por meio da observação de bolhas formadas nos frascos.

As sementes dos diferentes lotes, 200 gramas, inicialmente foram embebidas em água por 60 minutos e em seguida, foram colocadas no frasco de armazenamento do aparelho de Pettenkofer, onde permaneceram por mais 60 minutos, tempo para que o $\text{Ba}(\text{OH})_2$ reagisse com o CO_2 proveniente da atividade respiratória das sementes, o que resultou em um precipitado branco (BaCO_3).



Figura 1 – Aparelho de Pettenkofer

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

O cálculo da atividade respiratória foi realizado com base na seguinte equação: $\mathbf{N \times D \times 22}$ (MÜLLER, 1964), onde: **N** = normalidade do ácido usado (HCl 0,1N); **D** = diferença entre o volume de HCl gasto na Titulação da Prova em Branco e o volume de HCl gasto na Titulação da Amostra; **22** = normalidade do CO_2 . O

resultado foi expresso em quantidade de dióxido de carbono liberado por grama de semente, por hora ($\mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grau de umidade das sementes provenientes de três lotes de soja cultivar 8000 e de arroz cultivar IRGA 422CL (Tabela 1) foi semelhante para todos os lotes, não havendo diferença estatística significativa. Isso é importante para a execução dos testes para avaliação da qualidade de sementes, considerando que a uniformidade do grau de umidade é imprescindível para a padronização das avaliações e obtenção de resultados consistentes (LOEFFLER et al., 1988).

Tabela 1 – Grau de umidade médio de três lotes de sementes de soja cultivar 8000 e de arroz cultivar IRGA 422CL.

Lote	Grau de umidade (%) Soja cv 8000	Grau de umidade (%) Arroz cv IRGA 422CL
01	12,1	14,1
02	12,2	13,9
03	12,5	13,9

Os lotes 01 e 02 provenientes de sementes de soja cv. 8000, apresentaram maior porcentagem de germinação (Tabela 2), ou seja, foram os lotes de melhor qualidade fisiológica, enquanto o lote 03 mostrou menor porcentagem de germinação, sendo considerado o de qualidade fisiológica inferior. Quanto as sementes de arroz cv. IRGA 422CL (Tabela 3), o lote 01 apresentou maior porcentagem de germinação, podendo ser considerado de alta qualidade fisiológica, o lote 02 de média qualidade e o lote 03 de qualidade inferior.

Comportamento semelhante foi observado no teste de primeira contagem da germinação, onde os lotes 01 e 02 das sementes de soja obtiveram maior porcentagem de plântulas normais, enquanto que os lotes 01, 02 e 03 de arroz mostraram diferenças significativas quanto a porcentagem de plântulas normais (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2 – Germinação (TG), primeira contagem da germinação (PCG) e condutividade elétrica (CE), três e 24 horas de embebição, em três lotes de sementes de soja cv 8000

Lote	TG (%)	PCG (%)	CE ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	
			3hs	24hs
01	85,7 A*	79,0 A	15,13 B	35,24 C
02	80,3 A	79,3 A	15,35 B	38,49 B
03	49,0 B	44,0 B	18,84 A	58,68 A
CV (%)	5,85	3,76	5,42	3,40

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

Tabela 3 – Germinação (TG), primeira contagem da germinação (PCG) e condutividade elétrica (CE), três e 24 horas de embebição, em três lotes de sementes de arroz cv. IRGA 422 CL

Lote	TG (%)	PCG (%)	CE ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	
			3hs	24hs
01	93,6 A*	90,9 A	5,87 B*	8,64 C
02	78,9 B	68,5 B	7,22 A	10,11 B
03	66,2 C	59,3 C	8,10 A	11,64 A
CV (%)	3,06	2,66	5,57	5,34

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

O teste de condutividade elétrica (24 horas de embebição) indicou os lotes 02 e 03 das sementes de soja e de arroz (Tabela 2 e 3) como os que lixiviaram mais solutos, constituindo-se como de média e baixa qualidade fisiológica. Por outro lado, os lotes 01 de ambas espécies apresentaram menores taxas de lixiviação de solutos, revelando serem lotes de melhor qualidade fisiológica. Dessa forma, o teste de condutividade elétrica apresentou boa sensibilidade para diferenciar a qualidade fisiológica dos diferentes lotes de sementes de soja e arroz. Da mesma forma o teste de condutividade elétrica é suficiente para diferenciar a qualidade fisiológica de dez genótipos de soja (SCHUAB, 2003). Os resultados do referido teste estão de acordo com os obtidos nos testes de germinação, primeira contagem da germinação (Tabela 2 e 3) e emergência de plantas em casa de vegetação (Tabela 4 e 5).

A avaliação da qualidade fisiológica dos três lotes de sementes de soja cv. 8000 e arroz cv. IRGA 422CL, realizada por meio dos testes de emergência de plântulas em casa de vegetação, comprimento da parte aérea e raiz, e massa seca total (Tabelas 4 e 5), mostraram que estes também permitiram agrupar os lotes em três níveis de vigor: sendo o lote 01 de melhor vigor e os lotes 02 e 03 de médio e de baixo vigor, respectivamente.

Tabela 4 – Emergência (E), comprimento da parte aérea (CPA) e raiz (CR) e massa seca total (MST) de plântulas de soja cv. 8000 crescidas em casa de vegetação, provenientes de três lotes de sementes

Lote	E (%)	CPA		CR	MST (mg plântula ⁻¹)
		(mm plântula ⁻¹)			
01	87,0 A*	195,0 A	334,5 A	352,1 A	
02	82,3 B	158,1 B	298,0 B	317,0 B	
03	31,3 C	112,7 C	268,2 C	284,9 C	
CV (%)	2,05	3,69	1,12	3,86	

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

Tabela 5 – Emergência (E), comprimento da parte aérea (CPA) e raiz (CR) e massa seca total (MST) de plântulas de arroz cv. IRGA 422CL crescidas em casa de vegetação, provenientes de três lotes de sementes

Lote	E	CPA	CR	MST
	(%)	(mm plântula ⁻¹)		(mg plântula ⁻¹)
01	87,0 A*	169,5 A	89,1 A	63,6 A
02	72,7 B	113,7 B	77,5 B	56,9 B
03	64,0 C	96,2 C	65,8 C	36,2 C
CV (%)	3,99	3,27	4,40	2,67

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

A atividade respiratória obtida por meio do método de Pettenkofer, das sementes de soja cv. 8000 e arroz cv. IRGA 422CL provenientes de três lotes estão representados nas figuras 2 e 3. Os lotes 01, 02 e 03 de ambas espécies apresentaram alta, média e baixa atividade respiratória, respectivamente. Esses resultados, apresentaram a mesma tendência que os demais testes de vigor (Tabelas 2, 3, 4 e 5) utilizados para expressar o desempenho da qualidade fisiológica, bem como distinguiu os lotes em diferentes níveis de vigor. Assim, podemos inferir que o lote 01 foi o de alto, o 02 médio e o 03 de baixo vigor. Portanto, confirmando que o método de Pettenkofer para determinar a taxa respiratória é um método alternativo, simples prático e barato para diferenciar lotes de sementes no que tange ao vigor.

Vários trabalhos mostram que alterações responsáveis pela queda do vigor reduzem a taxa respiratória e a atividade de enzimas, enquanto outros sugerem reduções na quantidade de enzimas e na normalidade de sua formação nos mitocôndrios. As pesquisas também indicam que os mitocôndrios em sementes secas e no início do processo de embebição, não têm um sistema organizado de membranas, a recuperação estrutural ocorre à medida que a hidratação prossegue e os mitocôndrios se tornam mais eficientes na fosforilação oxidativa. A manutenção do vigor pode ser visualizada como consequência do período de tempo necessário para que os mitocôndrios fiquem mais eficientes, passem a executar funções

respiratórias e o sistema de membranas se torne melhor organizado (MARCOS FILHO, 2005).

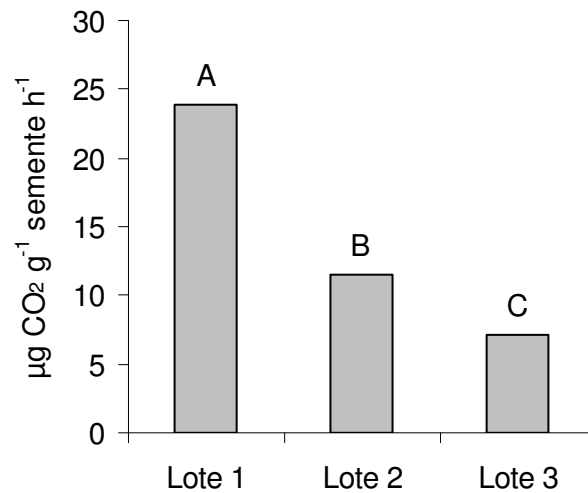


Figura 2. Atividade respiratória média de lotes de sementes de soja cultivar 8000, determinada pela quantidade de CO₂ liberada.

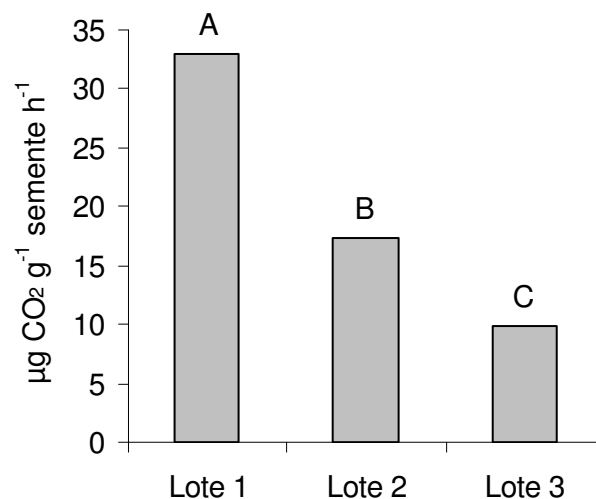


Figura 3. Atividade respiratória média de lotes de sementes de arroz cultivar IRGA 422CL determinada pela quantidade de CO₂ liberada.

A atividade e integridade dos mitocôndrios de embriões viáveis aumentam a partir do início da embebição, o que torna mais eficiente a produção de ATP, refletindo a elevação do consumo de oxigênio (BEWLEY e BLACK, 1994). Portanto,

podemos inferir que o tempo de embebição das sementes (60 minutos) e de permanência no aparelho de Pettenkofer (60 minutos) foi suficiente para permitir a separação dos lotes, levando em conta a sua qualidade fisiológica identificada por meio dos testes de referência utilizados nesse trabalho (Figuras 2 e 3).

CONCLUSÕES

- A utilização do método de Pettenkofer é eficiente para avaliar a atividade respiratória em sementes de soja cv. 8000 e arroz cv. IRGA 422CL;
- o método utilizado indicou resultados compatíveis com outros testes para determinação da qualidade fisiológica de sementes de soja e arroz;
- o tempo de embebição, 60 minutos, e de permanência das sementes de soja e arroz no aparelho de Pettenkofer, 60 minutos, foi eficiente para detectar diferenças na respiração, podendo também proporcionar a diferenciação de lotes em alto, médio e baixo vigor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, A. S. **Desenvolvimento de testes para avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.)**. 1994. ?f Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSIS (AOSA). **Seed vigour handbook**. The handbook of seed testing. East Lansing, 1983. 88p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nd ed. New York, Plenum Press. 1994. p
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNAD/CLAV, 1992. 365p.
- BYRUM, J. R.; COPELAND, L. O. Variability in vigour testing of maize (*Zea mays* L.) seed. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.23, n. 2, p.543-549, 1995.
- CALIARI, M.F.; SILVA, W.R. da. Interpretação de dados de testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.239-251, 2001
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargil, 2000. 424p.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**. Norway, v.1, n.2, p.427-452,1973.

DELOUCHE, J.C. Germinação, Deterioração e Vigor da Semente. Reportagem de capa mês Nov/Dez. **Revista Seed News**, v.6, n.6, 2002. Disponível em <http://www.seednews.inf.br>. Acesso em 27/01/2008.

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

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

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

HÖFS, A. **Vigor de sementes de arroz e desempenho da cultura**. 2003. 44f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

KOLCHINSKI, E.M. **Vigor de sementes de soja e aspectos do desempenho em campo**. 2003. 47f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. UFPel, Pelotas.

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

MACHADO, R.F. **Desempenho de aveia-branca (*Avena sativa* L.) em função do vigor de sementes e população de plantas**. 2002. 46f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. UFPel, Pelotas.

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

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

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

McDONALD JUNIOR, M.B.; WILSON, D.O. An assessment of the standardization and ability of the ASA-610 to rapidly predict potential soybean germination. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v.4, n.2, p.1-11, 1979.

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

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p.2.1-2.24.

NOVEMBRE, A.D.L.C. Avaliação da qualidade de sementes. Reportagem de capa mês Maio/Jun. **Revista Seed News**, v.5, n.3, 2001. Disponível em www.seednews.inf.br. Acesso em 27/01/2008

PÁDUA, G.P. de. Vigor de sementes e seus possíveis efeitos sobre a emergência em campo e produtividade. **Informativo ABRATES**, Londrina. v.8, n.1/2/3, p.46-49, 1998.

PESKE, S.T.; LUCCA FILHO, O.A.; BARROS, A.C.S.A. **Sementes**: fundamentos científicos e tecnológicos. 2.ed. Pelotas: Ed. Universitária/UFPel, 2006. 470p.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília, Agiplan, 1977. 289p.

ROSSETTO, C.A.V.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre os métodos de envelhecimento acelerado e de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 52, n.1, p123-131, 1995

ROSSETO, C.Q.V.; NOVEMBRE, A.D.C.; MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R.; NAKAGAWA, J. Efeito da disponibilidade hídrica do substrato na qualidade

fisiológica e do teor de água inicial das sementes de soja no processo de germinação. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.54, n.1/2, p.97-105, 1997.

SCHUAB, S. R. P. **Avaliação da qualidade fisiológica das sementes de soja por meio da taxa de crescimento das plântulas e do teste de germinação sob estresse hídrico**. 2003. 80f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2003.

SCHUCH, L.O.B.; NEDEL, J.L.; ASSIS, F.N.; MAIA, M.S. Vigor de sementes e análise de aveia preta. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.57, n.2, p.305-312, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p