

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal



Tese

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

CRISTINA RODRIGUES MENDES

Pelotas, 2008

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

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

M538a Mendes, Cristina Rodrigues

Atividade respiratória como método alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes / Cristina Rodrigues Mendes. - Pelotas, 2008.

21f. : il.

Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Instituto de Biologia. Universidade Federal de Pelotas. - Pelotas, 2008, Dario Munt de Moraes, Orientador; co-orientador Nei Fernandes Lopes .

1. Aparelho de Pettenkofer 2. Qualidade fisiológica 3. Respiração 4. Sementes

I. Moraes, Dario Munt de (Orientador), II. Lopes, Nei Fernandes (Co-orientador), III. Título.

CDD 631.531

CRISTINA RODRIGUES MENDES

Aprovada em: 30 de Maio de 2008.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Dario Munt de Moraes (Orientador)

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

Prof.^a Dr.^a Claudete Miranda Abreu

Prof. Dr. Luciano do Amarante

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 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 a conclusão deste trabalho.

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

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

Aos colegas Cristina Larré, Caroline Moraes, Patrícia Marini, Fabiana Timm, Ariadne Henriques, Antelmo Falqueto e Rafael Madail, pela agradável convivência, amizade e apoio.

Aos funcionários do Departamento de Botânica Suzi, Luisa, Rudinei, Honório e Ari pela colaboração, incentivo e amizade.

Aos demais professores, colegas e funcionários pela agradável convivência.

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

Lista de Figuras

Figura 1 -	Aparelho de Pettenkoffer.....	09
Figura 2 -	Atividade respiratória média de lotes de sementes de soja cultivar 8000 determinada pela quantidade de CO ₂ liberada..	15
Figura 3 -	Atividade respiratória média de lotes de sementes de arroz cultivar IRGA 422CL determinada pela quantidade de CO ₂ liberada.....	15

Lista de Tabelas

- Tabela 1 - Grau de umidade médio de três lotes de sementes de soja cultivar 8000 e de arroz cultivar IRGA 422CL.....11
- 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.....12
- 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.....12
- 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.....13
- 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.....14

SUMÁRIO

RESUMO.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
INTRODUÇÃO.....	1
MATERIAL E MÉTODOS	7
RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
CONCLUSÕES.....	17
REFERÊNCIAS	18

RESUMO

MENDES, CRISTINA RODRIGUES. **Atividade respiratória como método alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes**. 2008. 21f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Novos métodos na avaliação da qualidade fisiológica são uma necessidade em programas de controle de qualidade de sementes. Portanto, este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência e rapidez do método de Pettenkofer na determinação da atividade respiratória para diferenciar o vigor de lotes de sementes. 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 dos lotes. De acordo com os resultados, conclui-se que lotes de alto vigor apresentam maior atividade respiratória que os de baixo vigor. A determinação da atividade respiratória, pelo método de Pettenkofer, é eficiente, rápida e útil como teste alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes de soja cv. 8000 e de arroz cv. IRGA 422CL.

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

ABSTRACT

MENDES, CRISTINA RODRIGUES. **Atividade respiratória como método alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes.** 2008. 21f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

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. According to the results, it appears that lots of high vigor show more respiratory activity than the lower vigor. The determination of respiratory activity, for the method of Pettenkofer, is efficient, quick and useful as alternative test in the differentiation of vigor of lots, of soybean 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 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, é questionada a validade deste teste para prever o comportamento das sementes no campo, onde as condições ideais do ambiente dificilmente ocorrem (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 uniformidade da emergência, 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, 2002). 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 à medição da atividade respiratória em condição de laboratório. A respiração é a oxidação completa de compostos de carbono a CO_2 e água, através de uma série de reações, usando oxigênio como acceptor final de elétrons. A energia é liberada e conservada na forma de ATP (TAIZ e ZEIGER, 2004). Os substratos respiratórios podem ser carboidratos como amido, sacarose, frutose, glicose e outros açúcares; lipídios, principalmente os triglicérides; ácidos orgânicos e proteínas (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). A atividade e integridade dos mitocôndrios de embriões viáveis aumenta a partir do início da embebição, tornando mais eficiente a produção de ATP, refletindo a elevação do consumo de oxigênio (BEWLEY e BLACK, 1994). 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. (PESKE et al., 2006).

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. Importantes macromoléculas, como DNA e RNA, proteínas, lipídios, clorofilas, carotenóides e fitormônios, são formadas por esqueletos carbonados desviados da via respiratória. Para a síntese desses novos materiais indispensáveis ao crescimento, são necessárias também substâncias de alto poder redutor (NADH, FADH₂) e elevado conteúdo energético (ATP). Portanto, nem todo carbono contido no substrato respiratório é liberado na forma de CO₂, e nem todos elétrons contidos nos nucleotídeos reduzidos (NADH, FADH₂) se combinarão com O₂ para produzir H₂O (MARENCO e LOPES, 2007).

A velocidade respiratória da semente é influenciada pelo seu teor de umidade, pela temperatura, permeabilidade das membranas, pela tensão de oxigênio e luz. O aumento da atividade respiratória da semente pode ser avaliado pela quantidade de gás carbônico (CO₂) liberado, pela quantidade de oxigênio (O₂) consumido ou pela relação entre CO₂ liberado e O₂ consumido (CO₂/O₂) denominada quociente respiratório (Q_R) (POPINIGIS, 1977). O Q_R varia em função do tipo de substrato que é oxidado, sendo baixo para a oxidação de lipídios (Q_R < 1), estruturas ricas em carbono e pouco oxidadas; em torno de uma unidade para carboidratos (Q_R ≈ 1) e alto na oxidação de ácidos orgânicos, compostos abundantes em oxigênio (MARENCO e LOPES, 2007).

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 O₂ consumido, por exemplo respirômetro de Warburg e no eletrodo de Clark (potenciometria), ou na medição de CO₂ liberado, utilizando métodos físicos como o analisador de gás infravermelho (IRGA), ou físico-químicos que se baseiam na retenção de CO₂ 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 presente trabalho teve como objetivos determinar a atividade respiratória de sementes pelo método físico-químico de Pettenkofer, relacionar a compatibilidade dos seus resultados com outros testes de determinação da qualidade fisiológica de sementes e avaliar a eficiência do método para diferenciar o vigor de lotes em curto espaço de tempo, visando oferecer um novo teste econômico e de fácil manipulação para uso em laboratório de análise de sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Sementes e em casa de vegetação do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pelotas. Utilizaram-se 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 do 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 condutímetro modelo Digimed CD-21 e os resultados expressos em $\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$ de semente em função da massa inicial das sementes utilizadas (AOSA, 1983);

Emergência de plântulas em 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 Pottenkofer (Figura 1), o qual é constituído por quatro frascos lavadores de gases, sendo que dois contêm hidróxido de sódio (NaOH) a 25%, que tem por finalidade reter o CO_2 do ar ambiente; um frasco destinado para

armazenamento das sementes em estudo isento de CO_2 do ar ambiente e um outro contendo hidróxido de bário $\text{Ba}(\text{OH})_2$ a 25%, o qual reage com o CO_2 proveniente da atividade respiratória das sementes, resultando em carbonato de bário (BaCO_3). Os frascos são interligados por uma mangueira de silicone acoplada a uma trompa aspiradora de ar. O fluxo de ar é regulado por uma torneira, permitindo o controle de sua velocidade por meio da observação de bolhas formadas nos frascos.

As sementes dos diferentes lotes (200g) foram colocadas a embeber no frasco de armazenamento por 60 minutos à temperatura de 25°C , em banho-maria. Após período de embebição foi retirado o excesso de água, conectado o frasco aos demais e dado início ao funcionamento do aparelho por 60 minutos à 25°C .



Figura 1 – Aparelho de Pettenkofer

Após o período de permanência no aparelho foram coletadas cinco 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 quantidade de CO_2 fixado pela solução de $\text{Ba}(\text{OH})_2$, é utilizado no cálculo da atividade respiratória das sementes, sendo o CO_2 fixado proveniente do processo de respiração. No entanto, deve ser ressaltado que a quantidade calculada refere-se ao conteúdo de CO_2 presente na alíquota titulada.

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

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições para a determinação da atividade respiratória e três para os demais testes, 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 ($\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$)	
			3hs	24hs
01	85,7 A*	79,0 A	1513 B	3524 C
02	80,3 A	79,3 A	1535 B	3849 B
03	49,0 B	44,0 B	1884 A	5868 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 ($\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$)	
			3hs	24hs
01	93,6 A*	90,9 A	587 B	864 C
02	78,9 B	68,5 B	722 A	1011 B
03	66,2 C	59,3 C	810 A	1164 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. Assim, 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 alto vigor e os lotes 02 e 03 de médio e 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.

Sementes de alto vigor originam plântulas com maior taxa de crescimento devido a melhor capacidade de metabolização de reservas (DAN et al., 1987). Há diferenças na emergência a campo, crescimento inicial de plântulas de milho e na capacidade dessas em acumular massa seca conforme o vigor das sementes (TEKRONY et al., 1989).

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 e distinguir 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.

Pesquisas indicam que 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 conseqüência 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).

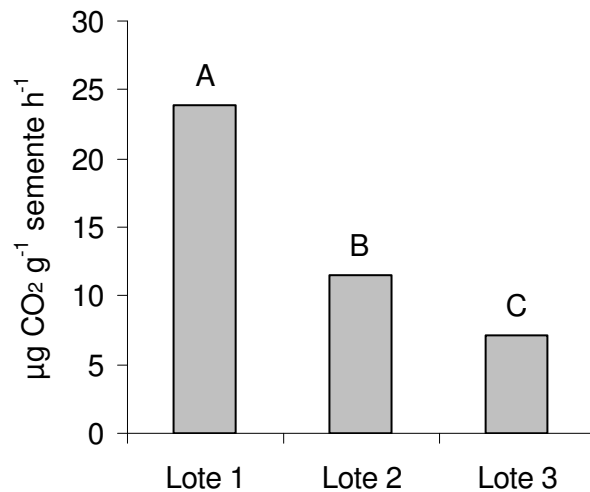


Figura 2. Atividade respiratória média de lotes de sementes de soja cultivar 8000, determinada pela quantidade de CO₂ liberada.

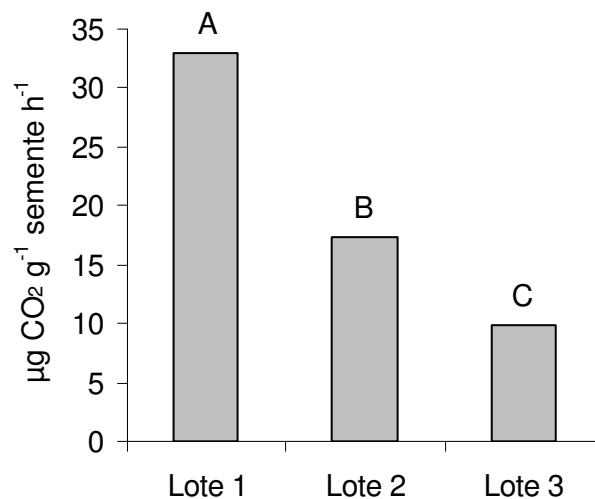


Figura 3. Atividade respiratória média de lotes de sementes de arroz cultivar IRGA 422CL, determinada pela quantidade de CO₂ liberada.

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).

O tempo de embebição das sementes (60 minutos) e de permanência no aparelho de Pettekofer (60 minutos) foi suficiente para permitir a separação dos lotes quanto a qualidade fisiológica (Figuras 2 e 3), identificada também por meio dos testes de germinação, primeira contagem de germinação, condutividade elétrica

24hs, emergência, massa seca total, comprimento da parte aérea e da raiz de plântulas, utilizados como referência. Portanto, após a comparação dos resultados do teste com os de referência, podemos inferir que a determinação da atividade respiratória, pelo método de Pettenkofer, é um teste alternativo, rápido, simples e barato para diferenciar lotes de sementes quanto ao vigor.

CONCLUSÕES

- Os resultados são compatíveis com os de outros testes para determinar a qualidade fisiológica de sementes de soja e arroz;
- lotes de alto vigor apresentam maior atividade respiratória que os de baixo vigor;
- a determinação da atividade respiratória, pelo método de Pettenkofer, é eficiente, rápida e proporciona a diferenciação do vigor de lotes.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, A. S. **Desenvolvimento de testes para avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.)**. 1994. 52f. 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**. 2.ed. New York, Plenum Press, 1994. 445p.
- 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**, Zurich, 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.

DAN, E. L.; MELLO, V. D. C.; WETZEL, C. T. Transferência de matéria seca como método de avaliação do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.9, n.3, p.45-55, 1987.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**. Zurich, 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 27Jan 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**, Springfield, 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.; 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.1-24.

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 Jan 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, p.123-131, 1995.

ROSSETO, C.A.V.; NOVENBRE, 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.

TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B.; WICKHAM, D.A.. Corn seed vigor effect on no-tillage field performance. I. Field emergence. **Crop Science**, Madison, v.29, p.1523-1528, 1989.