

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DISPONIBILIDADE DE MINERAIS, GERMINAÇÃO E VIGOR  
DE SEMENTES DE MILHO**

**Stefânia Caixeta Magalhães**

Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Julho de 2009

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DISPONIBILIDADE DE MINERAIS, GERMINAÇÃO E VIGOR  
DE SEMENTES DE MILHO**

**Stefânia Caixeta Magalhães**

**Orientador: Prof. Dr. Francisco Humberto Dübbern de Souza**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção e Tecnologia de Sementes).

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Julho de 2009

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**STEFÂNIA CAIXETA MAGALHÃES** – nasceu em Patos de Minas, MG, no dia 22 de Janeiro de 1982. Concluiu sua graduação em Fevereiro de 2007 na Universidade Federal de Viçosa (UFV) como Engenheiro Agrônomo. Iniciou o mestrado em março de 2007, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) Câmpus Jaboticabal em Agronomia (Produção e Tecnologia de Sementes).

“A vida é uma escuridão se não houver um impulso.  
Todo o impulso é cego se não houver saber.  
Todo o saber é vão se não houver o trabalho.  
Todo o trabalho é vazio se não houver o amor.”

(HERMES)

DEDICO

Ao meu filho Pedro,  
ao meu noivo Naylor  
e aos meus pais Maria Inêz e Clever

## AGRADECIMENTOS

A Deus!

Ao Pedro por perdoar-me pela ausência e ainda assim continuar me amando.

Ao Naylor pela paciência descomunal e o companheirismo nos momentos mais difíceis.

À minha mãe, Maria Inêz, pelo apoio em todos os sentidos e principalmente por cuidar do meu bem mais precioso durante esta etapa.

Ao meu pai, Clever, por sempre acreditar em mim, até quando eu não mais queria acreditar.

À minha sogra, Lourdes e ao meu sogro Nadir pelo apoio e carinho.

Ao meu orientador, Dr. Francisco H. Dübbern de Souza pelos ensinamentos.

Aos professores que proporcionaram conhecimento e amizade.

Aos companheiros de trabalho da Embrapa : Natal, Ana Rita, Silmara, Edivan, Victor, Wladiana, Eveline.

A Cristina, que revelou-se uma amiga para toda a vida.

Ao Rodolfo, por estar sempre comigo na etapa realizada na Embrapa, com muita paciência, bom humor e persistência.

Às moradoras da Casa: Mariana, Sarah, Lícia, Fabiana e Juliana por me receberem tão bem e serem sempre ouvintes pacientes e fortes conselheiras.

Aos Funcionários da UNESP - Jaboticabal: Lázaro, Rubens e Geraldo.

Às minhas colegas de mestrado: Leandra, Mariana e Juliane.

Em especial a Denise que sempre se mostrou disposta a ajudar em todos os sentidos, e Delineide que participou com muito apoio e disponibilidade.

Ao casal Vera e Sílvio, a Josimaria e Paula por me acolherem nos primeiros momentos em São Carlos.

Aos meus grandes amigos Carla Suguimoto e Paulo Martinelli pela amizade.

A Márcia, Cida e Palmira, por fazerem por mim e pela minha casa o que não pude neste período.

À UNESP.

Ao Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste (Embrapa Camchim) pela oportunidade de realizar, em seus laboratórios, parte deste trabalho.

À Secretaria de Pós-graduação da UNESP, em especial a Karina Severo por estar sempre disposta a auxiliar-me.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

À todos os contribuintes que através do pagamento dos impostos custearam os meus estudos.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iii
PALAVRAS-CHAVE.....	iii
SUMMARY.....	iv
KEYWORDS.....	iv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1.Importância da cultura.....	3
2.2.Importância das sementes.....	3
2.2.1.Avaliação da qualidade das sementes.....	7
2.2.1.1. Massa de 50 sementes.....	7
2.2.1.2. Teste de germinação.....	7
2.2.1.3. Teste de condutividade elétrica.....	11
2.2.1.4. Teste de emergência de plântulas em campo.....	13
2.2.1.5. Teste de frio.....	13
2.3.Composição mineral das sementes e sua relação com qualidade...	15
2.3.1. Avaliação da composição mineral das sementes.....	19
2.3.1.1. Análise por injeção em fluxo (FIA).....	20
2.3.1.2. Espectrometria de emissão ótica acoplada a plasma de argônio induzido (ICP-OES).....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1.Local.....	23
3.2.Amostras.....	23
3.3.Armazenamento.....	23
3.4.Determinações e testes.....	24
3.4.1. Massa de 50 sementes.....	24



3.4.2. Teste de germinação.....	24
3.4.3. Teste de condutividade elétrica.....	24
3.4.4. Teste de emergência de plântulas em campo.....	24
3.4.5. Teste de frio.....	25
3.4.6. Análise de minerais.....	25
3.4.6.1. Preparo das amostras para avaliação pelos métodos FIA e ICP-OES.....	25
3.4.6.2. Análise por injeção em fluxo (FIA).....	26
3.4.6.3. Espectrometria de emissão ótica acoplada a plasma de argônio induzido (ICP-OES).....	26
3.4.7. Delineamento experimental.....	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1. Massa de 50 sementes.....	28
4.2. Teste de germinação.....	30
4.3. Teste de condutividade elétrica.....	30
4.4. Teste de emergência de plântulas em campo.....	30
4.5. Teste de frio.....	31
4.6. Fósforo inorgânico.....	31
4.7. Fósforo.....	34
4.8. Cálcio.....	36
4.9. Magnésio.....	38
4.10. Potássio.....	41
4.11. Considerações gerais.....	43
5. CONCLUSÕES.....	45
6. REFERÊNCIAS.....	46

## DISPONIBILIDADE DE MINERAIS, GERMINAÇÃO E VIGOR DE SEMENTES DE MILHO

**RESUMO** – A maioria dos métodos utilizados para estimar o vigor de amostras de sementes são qualitativos, portanto sujeito a erros do avaliador e de interpretação dos resultados. Metodologias quantitativas podem constituir alternativas mais confiáveis. Este trabalho teve como objetivo verificar se os níveis de alguns minerais armazenados nas sementes e disponibilizados durante etapas iniciais do processo de germinação constituem indicadores sensíveis e confiáveis do nível de vigor de sementes de milho. Vinte lotes de milho foram avaliados pelos testes de germinação, de condutividade elétrica, frio e de emergência da plântula. Após 12 h, 24 h, 36 h e 48 h do início da germinação, foram avaliados também as concentrações de fósforo inorgânico (Pi), fósforo, cálcio, potássio e magnésio por meio das técnicas de análise de injeção em fluxo (FIA) e de espectrometria de emissão óptica acoplada a plasma de argônio induzido (ICP-OES). Para estas análises, os minerais foram extraídos de amostras moídas com água a 95°C, agitadas por 30 minutos e centrifugadas. Concluiu-se que as concentrações de Pi, P, Ca, Mg e K, extraídos pelo método da água aquecida, em sementes de milho híbrido após determinados períodos de germinação, permitiram agrupar amostras de lotes de sementes de forma idêntica à permitida pelos resultados obtidos com vários testes utilizados para avaliar o nível de vigor de amostras de sementes. Nesse trabalho isso foi verificado pelas avaliações dos níveis de Pi após 12 h e 48 h, de P após 12 h, 36 h e 48 h, de Ca após 24 h, 36 h e 48 h, de Mg após 36 h e 48 h e de K após 36 h e 48 h de germinação.

**Palavras-chave:** condutividade elétrica, emergência de plântula, FIA, ICP-OES teste frio, *Zea mays* L.

## MINERAL AVAILABILITY, GERMINATION AND VIGOR OF CORN SEED

**SUMMARY** – Most of the traditional methods used for seed vigor evaluation are qualitative and, as such, prone to errors and results misinterpretation. Quantitative methods may constitute more reliable alternatives. The aim of this work was to verify if the concentrations of some minerals stored in the seeds and made available during the initial stages of the germination process constitute sensitive and reliable indicators of the level of corn seed vigor. Twenty seed lots were evaluated by means of the germination, electrical conductivity, cold and seedling field emergence tests. Additionally, the concentrations of inorganic phosphorus, phosphorus, calcium, potassium and magnesium at 12 h, 24 h, 36 h and 48 h after the initiation of the germination process were also evaluated by means of the injection analysis in flow (FIA) and the spectrometry of optic emission coupled to plasma of induced argon (ICP-OES) techniques. For these analyses grinded seed samples were extracted with water at 95°C, agitated for 30 minutes and centrifuged. It was concluded that the concentrations of Pi, P, Ca, Mg and K, extracted by the warm water method, in hybrid corn seeds after certain stages of the germination process, allowed the rating of seed lots in a way similar to that obtained with the results of several other seed vigor tests. Specifically, this was achieved by evaluating the concentrations of Pi after 12 h and 48 h, of P after 12 h, 36 h and 48 h, of Ca after 24 h, 36 h and 48 h, of Mg after 36 h and 48 h and of K after 36 h and 48 h after the beginning of the germination process.

**Keywords:** electrical conductivity, seedling field emergence, FIA, ICP-OES, cold test, *Zea mays* L.

## 1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.), espécie anual pertencente à família *Poaceae*, é uma das plantas agrícolas da mais alta importância para o Brasil e para o mundo. Seu amplo cultivo destina-se à produção de grãos, os quais são utilizados para vários fins, tais como alimentação humana, alimentação animal (maior parte), produtos industriais e, mais recentemente, para produção de etanol.

Para atender a demanda, novas tecnologias são continuamente geradas para aumentar a produção. Estas tecnologias envolvem, por exemplo, a produção de híbridos, sistemas de manejo do solo, irrigação e controle de pragas. A prática e a pesquisa têm mostrado, entretanto, que mesmo sob condições ótimas de cultivo, a utilização de semente de boa qualidade é fator fundamental para o rendimento das lavouras. Ocorre, entretanto que, para avaliar a qualidade das sementes, o uso exclusivo do teste de germinação tem-se mostrado insuficiente; o vigor tem sido destacado como uma característica fisiológica determinante para que seja atingida a produtividade esperada, em especial, quando as condições de cultivo ou de armazenamento das sementes são sub-ótimas.

Os métodos tradicionais de análise de vigor de sementes, entretanto, são qualitativos, portanto, sujeito a erros do avaliador e interpretação dos resultados. Metodologias quantitativas podem contribuir ao aumento da confiabilidade da estimativa do nível de vigor de amostras de sementes.

Devido ao fato dos nutrientes preencherem necessidades básicas e estarem envolvidos nos processos fundamentais da célula, as deficiências afetam grande variedade de estruturas e funções no vegetal, e podem afetar diretamente o vigor da semente.

Este trabalho teve como objetivo verificar se as concentrações de alguns minerais (fósforo inorgânico, fósforo, cálcio, potássio e magnésio) armazenados nas sementes e disponibilizados durante as etapas iniciais do processo de germinação

constituem indicadores sensíveis e confiáveis do nível de vigor de amostras de sementes de milho.

## **2. REVISÃO LITERATURA**

### **2.1.Importância da cultura**

No Brasil, o milho é cultivado em todo o território. Ao lado da soja, é uma das culturas mais importantes e responsáveis pelo rápido crescimento na produção brasileira de grãos. No estado de São Paulo, em 2007, foram produzidas 3,2 milhões de toneladas em 643,2 mil hectares (IEA, 2009). Em 2008/2009 foram produzidas aproximadamente 52,3 milhões de toneladas, resultantes de produtividade de 3.622 kg ha<sup>-1</sup> em 14,4 milhões de hectares de área plantada (CONAB, 2009). Mesmo assim, a produção nacional não é suficiente para atender as demandas do mercado interno, gerando problemas de abastecimento.

### **2.2.Importância das sementes**

Na agricultura moderna, a semente é dos insumos mais importantes e constitui um dos principais fatores determinantes do sucesso da produção. As sementes expressam no campo as características genéticas determinantes do desempenho do híbrido e, ao mesmo tempo, são responsáveis ou contribuem decisivamente para o sucesso do estabelecimento do estande desejado, fornecendo a base para produções rentáveis (MARCOS FILHO, 2005).

As sementes são estruturas biológicas complexas e fascinantes. Guardam na sua constituição genética os resultados de milhares de anos enfrentando riscos durante a dispersão e as variadas ameaças à sobrevivência e ao estabelecimento das plântulas, resultantes de adversidades naturais do ambiente ou da ação de agentes bióticos (MARCOS FILHO, 2005).

O estabelecimento de estande adequado é pré-requisito para se obter produtividades agrícolas compensadoras e de produtos de alta qualidade. Ainda que vários programas de pesquisa tenham resultado no desenvolvimento de tecnologias

adequadas para a produção de sementes de alta qualidade e de procedimentos apropriados para sua avaliação, o contínuo avanço do conhecimento possibilita a introdução de novas técnicas para aprimorar ambos, envolvendo estudos nas áreas de fisiologia, bioquímica, biologia molecular e biofísica (BINO et al., 1998).

O uso de procedimentos adequados para a avaliação do vigor tornou-se fundamental para qualquer programa de controle de qualidade de sementes.

A semente é o principal veículo de propagação de muitas espécies vegetais de interesse agrícola; estima-se que 80% das culturas sejam implantadas diretamente por meio delas. Por essa razão, os programas de avaliação da qualidade das sementes são vitais para o sucesso da atividade agrícola (BINO et al., 1998).

Qualidade de sementes é o somatório de todos os atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a sua capacidade de originar plantas de alta produtividade, ou seja, é a sua capacidade de desempenhar funções vitais que resultam no seu potencial germinativo, na sua longevidade e na expressão do seu vigor (POPINIGIS, 1985).

A produção de grãos e sementes difere sob alguns aspectos específicos. Em geral, as práticas de adubação são as mesmas para ambas as situações. Há, entretanto, evidências de que no caso da produção de sementes de muitas culturas a deficiência de micronutrientes pode concorrer para a formação de sementes com baixa qualidade (DELOUCHE, 1981).

Todos os nutrientes desempenham funções específicas e conhecidas, as quais podem ser prejudicadas se as plantas e as sementes forem supridas de forma insuficiente (RAVEN et al., 2001; MARENCO & LOPES, 2007).

A qualidade da semente é influenciada por vários fatores que podem se manifestar ainda no campo, durante a formação, a colheita, a secagem, o processamento, o armazenamento e a semeadura. Desse modo, empresas produtoras de semente buscam novas tecnologias para garantir a produtividade e, principalmente, a qualidade do produto destinado ao agricultor. Dentre os diversos procedimentos empregados, a avaliação do vigor é um requisito muito importante.

Portanto, a compreensão do conceito de vigor de semente requer o entendimento do processo de deterioração, um fenômeno que pode ser descrito como sendo a perda da capacidade da semente em desempenhar funções vitais que culminam com a produção de uma plântula normal. Tal perda é inevitável com o tempo, pois é resultante de alterações físicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares que ocorrem na semente durante seu ciclo de vida, particularmente após haver alcançado a maturidade fisiológica (DELOUCHE, 1963).

Por outro lado, HAMPTON (2002) propõe que o termo qualidade seja definido como sendo um grau, padrão ou símbolo de excelência, ou seja, que a qualidade de semente seja conceituada como sendo um padrão de excelência de um conjunto de características que determinam o potencial de desempenho da semente após a semeadura no campo ou durante o armazenamento.

De qualquer modo, a avaliação do vigor é indispensável, devido aos diversos fatores que contribuem para deterioração das sementes, seja no campo ou no armazém. É imprescindível a utilização de métodos capazes de oferecer resultados confiáveis. A avaliação da qualidade fisiológica das sementes é importante para um programa de produção, pois a elucidação dos fatores que possam afetar a qualidade das sementes depende da eficiência dos métodos utilizados para determiná-la.

Sendo assim, os testes de vigor permitem estimar e comparar a qualidade física, varietal, sanitária e fisiológica de lotes de sementes que apresentam idêntico potencial de germinação, mas que, potencialmente, podem apresentar comportamento distinto sob condições de campo ou durante o armazenamento (DIAS & MARCOS FILHO, 1995). As primeiras alterações nos processos bioquímicos associados à deterioração ocorrem, geralmente, antes que sejam verificadas declínios na capacidade germinativa (DELOUCHE & BASKIN, 1973). O teste de germinação é um indicador pouco sensível do progresso da deterioração das sementes e indica claramente apenas os estádios finais desse processo (MARCOS FILHO, 1999a).

O vigor constitui-se, portanto, no mais sensível índice de qualidade que permite a classificação dos lotes de sementes com germinação comercialmente aceitável (TEKRONY, 2001). Os testes de vigor devem ser confiáveis, comparáveis, rápidos,



simples, economicamente viáveis e apresentar correlação com a emergência de plântulas em campo (VIEIRA et al., 1994). Não há um teste padronizado para avaliar o vigor de sementes de todas as espécies, de forma que ainda é pequeno o número de espécies que tem teste de vigor recomendado ou sugerido (HAMPTON & TEKRONY, 1995). Idealmente, o vigor deve ser avaliado por dois ou mais testes diferentes, pois os testes avaliam diferentes aspectos do potencial fisiológico das sementes (TEKRONY & EGLI, 1991).

Segundo HAMPTON & TEKRONY (1995), “vigor de sementes é a soma das propriedades que determinam o nível do potencial da atividade e desempenho de uma semente ou de um lote de sementes durante a germinação e emergência de plântula”. Por sua vez, para a AOSA (1983), “vigor de sementes compreende aquelas propriedades que determinam o potencial para uma emergência rápida e uniforme e para o desenvolvimento de plântulas normais sob ampla faixa de condições ambientais”.

Os testes de vigor podem ser classificados em quatro grupos, quer sejam, físico, bioquímico, de resistência e fisiológico. Os testes físicos avaliam aspectos morfológicos ou características físicas das sementes associadas ao vigor, como, por exemplo: tamanho, peso unitário, densidade, coloração e refração a raios x. Nos testes bioquímicos, são avaliadas alterações bioquímicas associadas ao vigor das sementes, sendo que os testes representativos deste grupo são: respiração, tetrazólio e condutividade elétrica, GADA (atividade da enzima descarboxilase do ácido glutâmico) entre outros. Por sua vez, os testes de resistência avaliam o desempenho de amostras de sementes expostas a estresses e aqueles que exemplificam este grupo são: imersão em água quente, imersão em solução osmótica, imersão em soluções tóxicas, submersão, germinação a baixa temperatura, envelhecimento acelerado, deterioração controlada e teste frio. Já os testes fisiológicos, são representados pela primeira contagem, índice de velocidade de germinação, classificação do vigor das plântulas, emergência de plântulas, transferência de matéria seca, crescimento de plântulas e teste de exaustão (MARCOS FILHO, 1999a).

### **2.2.1. Avaliação da qualidade de sementes**

Embora vários testes tenham sido desenvolvidos e propostos para avaliar o vigor de sementes, nessa pesquisa foram destacados apenas alguns, os quais foram utilizados para a avaliação das sementes.

#### **2.2.1.1. Massa de 50 sementes**

Segundo MARTINEZ et al. (1998), o tamanho da semente é influenciado pelo processo de formação das sementes. No caso do milho, o enchimento inicia-se a partir da base da espiga, o que resulta em cariopses maiores, as quais diminuem gradativamente o tamanho até o ápice da espiga. Por sua vez, a forma da semente é influenciada pela pressão exercida sobre a adjacente durante a fase de formação, e essa pressão ocorre com mais intensidade na parte mediana da espiga, fazendo com que as sementes ali localizadas tornem-se achatadas, ao passo que aquelas localizadas no ápice e na base da espiga são arredondadas após a maturação (WOLF et al., 1952).

De acordo com PETERSON et al. (1995) as sementes situadas na base e no ápice da espiga são mais danificadas mecanicamente, em comparação com as sementes medianas, e apontaram a predisposição das sementes danificadas à maior taxa de deterioração.

#### **2.2.1.2. Teste de germinação**

A semente é o órgão responsável pela dispersão e perpetuação das plantas que as produzem. O termo semente é utilizado para designar um óvulo maduro, possuindo um eixo embrionário em algum estágio de desenvolvimento, material de reserva alimentar (raramente ausente) e um envoltório protetor, o tegumento. As funções das sementes relacionam-se com a dispersão e a sobrevivência da plântula dela resultante, tanto sob condições favoráveis quanto desfavoráveis, tais como extremos de

temperatura (dentro de certos limites) e de disponibilidade hídrica (DAMIÃO FILHO & MÔRO, 2001).

O embrião da semente inicia sua formação a partir do momento da fertilização do óvulo e desenvolve-se até que cesse seu crescimento e alcance um grau de umidade tão baixo que apenas atividade metabólica reduzida é possível. Nessas condições, a semente apresenta-se em estado de quiescência, pois o nível de disponibilidade de água (teor de água da semente) é insuficiente para permitir o processo germinativo, mesmo que temperatura, luz e oxigênio estejam disponíveis em níveis adequados para a espécie em questão.

Assim, a germinação constitui o reinício de crescimento do eixo embrionário, paralisado uma vez haver completada a maturidade fisiológica. Em síntese, tendo-se uma semente viável em repouso metabólico, resultante de quiescência ou de dormência, uma vez satisfeitos os requisitos de condições externas (do ambiente) e internas (intrínseca do órgão), ocorrerá o crescimento do eixo embrionário, ou seja, a germinação. Para que o processo de germinação ocorra normalmente, além das condições intrínsecas das sementes, as condições ambientais apropriadas para cada espécie são essenciais e se uma delas mostrar-se inadequada, a germinação não ocorre (KOLLER & HADAS, 1982).

Por isso, do ponto de vista fisiológico, germinar significa sair de um estado de repouso a partir da intensificação da atividade metabólica (BORGES & RENA, 1993). BEWLEY & BLACK (1994) sugeriram três etapas principais durante a germinação, quer sejam: 1) reativação: na qual ocorrem a embebição e a ativação da respiração e das demais etapas do metabolismo, 2) indução do crescimento: que corresponde a uma fase de repouso, como preparo ao crescimento, e 3) crescimento: fase na qual verifica-se a protrusão da raiz primária.

O termo germinação tem sido conceituado de diferentes maneiras, em função do campo de investigação. Segundo LABOURIAU (1983), do ponto de vista botânico, a germinação é um processo biológico constituído pela retomada do crescimento do eixo embrionário, com conseqüente rompimento do tegumento pela raiz primária. Para os tecnologistas de sementes, no entanto, a germinação é reconhecida como sendo a

produção de uma plântula normal como resultado da intensificação do metabolismo da semente e desenvolvimento das partes do embrião (BRASIL, 1992).

A germinação de sementes envolve uma drástica intensificação de processos metabólicos que, dentre outras ações, atuam sobre os nutrientes armazenados nas sementes durante o processo de maturação. Células que inicialmente sintetizavam amido insolúvel, proteínas, e lipídios, durante o desenvolvimento da semente passam a hidrolisar estes compostos. Durante o desenvolvimento da semente, ocorre o armazenamento de minerais nos tecidos, entretanto durante a germinação, compostos armazenados são hidrolisados e translocados para os tecidos meristemáticos do embrião que gradualmente se desenvolve em uma plântula. Esta inversão da ativação e translocação envolvem desativação de enzimas e transformação dos drenos em fontes (MARENCO & LOPES, 2007).

Segundo CARVALHO & NAKAGAWA (2000), a temperatura afeta o processo germinativo de três maneiras distintas: sobre o total, a velocidade e a uniformidade de germinação. A germinação só ocorrerá dentro de certos limites de temperatura os quais, se ultrapassado, impossibilitarão a germinação. Dentro desses limites há uma faixa de temperatura, na qual o processo ocorre com a máxima eficiência, ou seja, a taxa de germinação é a mais alta. Os limites extremos e a temperatura ótima constituem as temperaturas cardeais.

Em grande número de espécies o processo de germinação é estimulado pela alternância de temperaturas, à semelhança do que acontece na natureza, onde as temperaturas diurnas mais altas são sucedidas por temperaturas noturnas, mais baixas (MEDEIROS, 2001). Dentre essas espécies encontram-se inúmeras gramíneas utilizadas como pastagens (BRASIL, 1992).

O processo de germinação é iniciado e acelerado tão logo começa a embebição. Da absorção de água resulta também a reidratação dos tecidos, com a consequente intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e de nutrientes necessários à retomada do crescimento pelo eixo embrionário. Além desse papel de fundamental importância, a absorção de água desempenha outros, como o aumento do volume da semente, resultante da

entrada de água em seu interior, que provoca o rompimento do tegumento e facilita a emergência do eixo embrionário (ou outra estrutura qualquer) do interior da semente (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

Da mesma forma que acontece com outros fatores que afetam a germinação, deve haver adequado suprimento de oxigênio. Se a concentração de oxigênio é reduzida, a germinação de muitas sementes é retardada. Há, entretanto, algumas exceções a esta hipótese como, por exemplo, sementes de arroz que germinam sob a água, onde o oxigênio está presente em concentrações limitadas (COPELAND & MCDONALD, 1995).

A implantação de cultivos agrícolas tem como base os resultados do teste de germinação, realizado rotineiramente em laboratórios de análise de sementes. Sua condução segue recomendações e prescrições detalhadas contidas em regras para análise de sementes, editadas em diversos países, dentre os quais o Brasil (BRASIL, 1992), e por organizações internacionais, como a International Seed Testing Association (HAMPTON & TEKRONY, 1995).

O teste de germinação determina, numa amostra, a proporção de sementes vivas e capazes de produzir plantas normais sob condições favoráveis. Este teste foi desenvolvido e aperfeiçoado para avaliar o valor das sementes para semeadura, bem como para comparar diferentes lotes, servindo assim como base para o comércio de sementes. Este teste é conduzido de forma a oferecer às sementes as condições favoráveis, tais como iluminação, substrato, temperatura, umidade e aeração adequadas (FIGLIOLIA et al., 1993).

Para a obtenção de resultados confiáveis e comparáveis dos testes de germinação, é necessária a utilização de condições padrões, indicadas nas Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 1992). Isso significa que as condições sob as quais são realizados esses testes são controladas de forma a atenderem os requisitos ambientais ideais à germinação das sementes de cada espécie. Assim, considerando que tais condições raramente ocorrem no campo, a prática tem mostrado que, com frequência, o teste de germinação superestima o desempenho potencial de lotes de sementes, seja durante o armazenamento ou após a semeadura.

### 2.2.1.3. Teste de condutividade elétrica

O teste da condutividade elétrica, usado para estimar o vigor de sementes, é realizado com aparelhos capazes de estimar o fluxo de condutividade elétrica proporcionado por exsudatos que são liberados por sementes quando imersas em água. Esse teste possibilita duas formas de avaliação da condutividade: a chamada condutividade de massa ou sistema de copo (“bulk conductivity”), em que as sementes que compõem a amostra são avaliadas em conjunto e a avaliação da condutividade individual de cada semente (HAMPTON & TEKRONY, 1995).

O teste de condutividade elétrica fundamenta-se no fato de que o processo de deterioração está associado ao aumento da lixiviação dos constituintes celulares das sementes embebidas em água, em consequência da perda da integridade das membranas celulares (HEPBURN et al., 1984). Assim, comparativamente as sementes vigorosas, as com vigor menor apresentam menor velocidade de estruturação das membranas quando embebidas em água e, assim, liberam maiores quantidades de exsudatos para o exterior das células e dos tecidos, fato que pode ser quantificado em termos de condutividade elétrica (HAMPTON & TEKRONY, 1995; MARCOS FILHO, 2005). Sob condições de campo, essa liberação após a semeadura, além de provocar a perda da estrutura celular, estimula o crescimento de microrganismos nocivos à emergência das plântulas (AOSA, 1983; DOIJODE, 1988; CORTES & SPAETH, 1994; TAYLOR et al., 1995).

Os exsudatos liberados são compostos por açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, enzimas e íons inorgânicos, como  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  e  $Na^+$ . Estes solutos, com propriedades eletrolíticas, apresentam carga elétrica e podem, portanto, ser detectados por aparelhos apropriados (condutivímetros), constituindo este importante método para avaliação da qualidade fisiológica das sementes (MCDONALD JUNIOR & WILSON, 1980; POWELL, 1986; VIEIRA, 1994; DIAS & BARROS, 1995; PAIVA AGUERO et al., 1997).

No teste de condutividade elétrica avalia-se a condutividade total desses lixiviados, independentemente de quantidade ou de importância relativa de cada um dos

seus componentes. Entretanto, há evidências experimentais de que íons inorgânicos constituem os componentes mais importantes dos exsudatos, tanto que alguns autores (MARCOS FILHO et al., 1984; DIAS, 1994; CUSTÓDIO, 1995) estabeleceram relação exclusiva entre níveis de potássio lixiviado com o nível de vigor de amostras de lotes de sementes de soja.

Segundo POWELL (1998), o teste de condutividade elétrica satisfaz os critérios para um teste de vigor, pois apresenta base teórica consistente, correlaciona-se bem com a emergência de plântulas e pode ser reproduzido. No entanto, como todos os testes que associam as propriedades da membrana para a determinação do potencial de germinação, a condutividade elétrica é afetada por vários fatores os quais, podem de forma direta ou indireta, influenciar os resultados obtidos. Temperatura durante a embebição é um desses fatores, pois afeta diretamente a velocidade de embebição e a lixiviação de eletrólitos do interior das células para o meio externo (LEOPOLD, 1980; MURPHY & NOLAND, 1982). Entretanto, seu efeito sobre a lixiviação manifesta-se, basicamente, sobre a quantidade e velocidade de perda de lixiviados, sem alterar, necessariamente, a classificação dos lotes (HAMPTON & TEKRONY, 1995).

O teste de condutividade elétrica começou a ser utilizado na década de 20, como provável indicativo da viabilidade de sementes de plantas forrageiras (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999). A partir da década de 60, as pesquisas com este teste foram intensificadas (DIAS & MARCOS FILHO, 1995). Foi aceito e recomendado pela ISTA para uso em sementes de ervilha (MATTHEWS & POWELL, 1981) e pela AOSA em sementes de ervilha e de soja (HAMPTON & TEKRONY, 1995).

Os resultados deste teste são obtidos em aproximadamente 24 horas (HAMPTON & TEKRONY, 1995) ou menos, como no caso de sementes pequenas como as de hortaliças para as quais o período de embebição pode ser reduzido (MURPHY & NOLAND, 1982).

Para realização do teste de condutividade elétrica o número recomendado é de 50 sementes por amostra (VIEIRA, 1994; HAMPTON & TEKRONY, 1995), no entanto, constatou-se, certa variabilidade em procedimentos para análise de sementes de olerícolas.

#### **2.2.1.4. Teste de emergência de plântulas em campo**

O teste de emergência de plântulas em campo é também denominado de população inicial ou estande inicial e é utilizado para avaliar o vigor do lote de sementes, com base na porcentagem de emergência de plântulas em condições de campo.

Na medida em que as condições ambientais vão se distanciando da adequada, há diminuição da capacidade dos testes laboratoriais de estimar o potencial de emergência das plântulas. Assim, a relação entre os resultados dos testes de laboratório e a emergência depende diretamente do ambiente e dos procedimentos adotados para a semeadura (MARCOS FILHO, 1999a).

O inconveniente apresentado por testes conduzidos em campo é a dificuldade de padronização, uma vez que as condições edafoclimáticas variam de local para local bem como de ano para ano. Entretanto, como um dos objetivos dos testes de vigor é verificar o potencial de emergência de plântulas em campo, em condições favoráveis ou não, sua utilização como teste de vigor pode ser conveniente (NAKAGAWA, 1994).

Os testes de campo são conduzidos em condições de campo, de preferência na época recomendada para a semeadura da espécie em avaliação, pois, assim obtêm-se resultados diretamente aproveitáveis para a implantação da cultura ou tem-se bom indicativo do potencial de vigor dos lotes de sementes (NAKAGAWA, 1994).

#### **2.2.1.5. Teste de frio**

O teste de frio é um dos mais antigos e populares testes para avaliação do vigor de sementes. Foi desenvolvido, inicialmente, para avaliar o potencial fisiológico de semente de milho, procurando simular condições desfavoráveis (excesso de água, baixa temperatura e presença de fungos do solo) que ocorrem, com frequência, durante a época de semeadura na região denominada Cinturão do Milho, nos EUA (CICERO & VIEIRA, 1994). Um dos efeitos principais da baixa temperatura é dificultar a reorganização das membranas celulares durante a embebição, tornando mais lentos



tanto esse processo como o de germinação (BURRIS & NAVRATIL, 1979). Nessas condições, as possibilidades de sobrevivência das sementes vigorosas são maiores. De modo geral, os programas de controle de qualidade de sementes de milho incluem o teste de frio. Os resultados deste teste têm permitido a identificação de lotes com diferentes níveis de vigor (MOLINA et al., 1987; MEDINA & MARCOS FILHO, 1990; WILSON JUNIOR & TRAWATHA, 1991).

Embora existam diversos trabalhos nos quais este teste foi usado para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de outras espécies, os estudos com relação aos aspectos metodológicos e sua utilização concentram-se em sementes de milho (BARROS et al., 1999). A maioria das pesquisas sugere, para milho, a condução do teste em câmara fria, a 10 °C, durante sete dias; posteriormente, é conduzida a germinação por mais sete dias em câmaras ajustadas para 25 °C ou a temperatura ambiente (dependendo da região e da época do ano). No procedimento que inclui o uso de terra, a quantidade de água adicionada ao substrato está relacionada com o tipo de solo; normalmente o ajuste é realizado para 70 % da capacidade de retenção de água, mas quando se utilizam solos muito argilosos, é reduzida para 60 % (BARROS et al., 1999).

No Brasil, tem sido utilizado por empresas produtoras de semente principalmente nos estados das regiões Sul e Sudeste, onde lavouras de algodão, milho e soja podem ser semeadas entre o início do mês de setembro e meados de outubro. Nessa época, é comum a queda acentuada de temperatura e, dependendo do nível de vigor dos lotes de sementes, podem ocorrer problemas na emergência das plântulas em campo (KRZYZANOWSKI et al., 1991).

Algumas variações com relação à metodologia do teste foram propostas, no sentido de facilitar a sua execução, como o método desenvolvido por HOPPE (1956) e CROSIER (1957), citados por FIALA (1981), que consiste na utilização de rolos de papel de germinação com terra, reduzindo a quantidade de terra e o espaço necessário, esse último, fator limitante para alguns laboratórios. LOEFFLER et al. (1985), procurando manter os princípios básicos do teste de frio, sugeriram a utilização de rolos de papel de germinação sem terra, posteriormente mais conhecido como teste de frio

sem terra. Segundo os autores, esse método apresentou sensibilidade suficiente para detectar efeitos de danos causados pela secagem em sementes de milho, além de proporcionar maior reprodutibilidade de resultados, devido à simplicidade do método, quando comparado ao anterior.

### **2.3. Composição mineral de sementes e sua relação com qualidade**

Os procedimentos agrônômicos requeridos pela produção de grãos e de sementes diferem entre si quanto a alguns aspectos específicos; entretanto, para várias culturas, as práticas de adubação são similares para ambas as situações. Há, entretanto, evidências de que, no caso da produção de sementes, a deficiência de determinados nutrientes concorre de forma decisiva à formação de sementes com baixa qualidade (DELOUCHE, 1981).

Muitos minerais desempenham funções específicas bem conhecidas no metabolismo de plantas e de sementes, o qual é prejudicado quando suprido de forma insuficiente. Por preencherem tais necessidades básicas e por estarem envolvidos em processos que são fundamentais, deficiências minerais afetam grande variedade de estruturas e de funções no vegetal (RAVEN et al., 2001).

O fósforo é um macroelemento no organismo dos seres vivos e está largamente distribuído em todas as células e fluidos orgânicos (FRANCO, 1992). Nas plantas, níveis insuficientes de fósforo podem causar reduções do crescimento e da produção, diminuição do perfilhamento, comprometimento da floração e da granação das espigas e atraso no processo de maturação (NARRAS, 1991). Trata-se de elemento químico de extrema importância no metabolismo, por estar ligado a compostos como adenosina-trifosfato (ATP), uridina-trifosfato (UTP), citidina-trifosfato (CTP), guanosina-trifosfato (GTP), fosfolípidios, etc., que constituem fontes de energia aos processos metabólicos (MEURER et al., 1981).

O fósforo é também essencial no processo germinativo. Ele é constituinte dos ácidos nucleicos, responsáveis pela síntese de proteínas; dos fosfolípidios, importantes no controle da permeabilidade das membranas; dos glicerofosfatos e nucleotídeos,

importantes nos sistemas de produção de energia da célula (POPINIGIS, 1985). A respiração celular é fenômeno que consiste basicamente na liberação de energia química acumulada nas moléculas de diversas substâncias orgânicas, como carboidratos e lipídios (MARCOS FILHO, 2005). Há liberação de energia, parte como calor e parte transformada em energia química, armazenada principalmente sob a forma de trifosfato de adenosina - ATP (MARCOS FILHO, 2005), a energia é utilizada para as diversas atividades metabólicas da célula. Vale notar que a taxa respiratória das sementes durante a germinação é a mais elevada, em comparação com quaisquer outros processos fisiológicos das plantas (MARCOS FILHO, 2005).

O potencial de técnicas de avaliação da degradação de fitato, importante componente das reservas de fósforo, além de vários outros minerais, das sementes, como forma de distinguir lotes de sementes quanto ao vigor não foi explorado. MARTÍNEZ et al. (1996) relataram evidências de correlações entre a facilidade de absorção de água, ativação das enzimas, diminuição do teor de fitato e velocidade de germinação de sementes. Entretanto, tal relação foi atribuída à espessura do tegumento da semente (que regula a taxa de absorção de água), e não ao seu vigor; nesse trabalho não foram comparados lotes de sementes.

Diversos métodos têm sido propostos para extração e a determinação dos teores de fósforo (MIYAZAWA et al., 1984; SILVA et al., 1998) ou espécies de fósforo em diferentes tipos de amostras (O'DELL & BOLAND, 1976; MARCH et al., 1998; TALAMOND et al., 1998; MARCH et al., 2000; MARCH et al., 2001). Em 1976, O'DELL & BOLAND propuseram a determinação de fitato em germe de milho utilizando água aquecida como meio extrator, com o que puderam determinar 90% do fitato presente na amostra.

Entretanto, ainda não existem relatos de possíveis associações entre o processo de hidrólise do fitato e a qualidade fisiológica (vigor) das sementes. Espécies e cultivares diferem entre si quanto ao conteúdo de fitato, à síntese de fitase, à retenção de fitato durante a germinação e às características da fitase (ESKIN & WIEBE, 1983; BEAL & METHA, 1985; BARTNIK & SZAFRANSKA, 1987). Esse sal catiônico de ácido fítico é formado por moléculas derivadas do açúcar mioinositol, ao qual se ligam grupos

$\text{PO}_4^{3-}$ , que complexam com outros minerais, principalmente,  $\text{K}^+$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , mas também com  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  (LOTT *et al.*, 2000). A liberação de minerais complexados ao fitato depende da ação de um grupo especial de fosfatases encontradas nas sementes, denominadas fitases (mioinositol hexafosfato fosfohidrolase, E C 3.1.3.8). Estas enzimas são capazes de hidrolizar o fitato em uma série de ésteres de mio-inositol e fosfatos durante a germinação (TABEKHIA & LUH, 1980; ESKIN & WIEBE, 1983; BEAL & METHA, 1985; BARTNIK & SZAFRANSKA, 1987; FRIAS *et al.*, 2003), no entanto, relações entre esses processos e a qualidade fisiológica das sementes não foram estudadas.

As reservas de fitato nas sementes podem conter de 50 a 80 % do fósforo total ali armazenado e constitui, portanto, sua principal forma de armazenamento de fósforo. Em sementes de milho, 80 % ou mais do ácido fítico encontram-se no embrião e, o restante, na camada de aleurona (O'DELL & BOLAND, 1972). Os fitatos representam 50 % do P total nas sementes de leguminosas e de 60 a 70 % do P total dos cereais (MARSCHNER, 1995). A maioria dos fitatos localiza-se na camada de aleurona nos cereais ou nos cotilédones das leguminosas. Suas principais funções fisiológicas são: a) suprir o processo de germinação com inositol, fosfato, e minerais (LOTT *et al.*, 2000; LEI & STAHL, 2001) e b) controlar os níveis de fosfatos inorgânicos, tanto na semente na fase de maturação quanto na sua germinação (STROTHER, 1980). Não foram ainda identificadas espécies vegetais em cujas sementes este sal não esteja presente (LOTT *et al.*, 2000).

O teor de cálcio varia com a espécie, com o órgão da planta e também em função das condições de crescimento. Em geral, as monocotiledôneas apresentam teores de  $\text{Ca}^{2+}$  inferiores (de 1 a 7  $\text{g kg}^{-1}$  Matéria Seca) aos apresentados pelas dicotiledôneas, que contêm entre 8 e 20  $\text{g kg}^{-1}$  MS (MIRANDA & MIRANDA, 2000), podendo alcançar até 50  $\text{g kg}^{-1}$  MS em alguns casos (MARSCHNER, 1995). A maior parte das funções realizadas pelo  $\text{Ca}^{2+}$  está associada à manutenção da estabilidade da membrana celular; mas esse nutriente é essencial também porque interliga grupos fosfatos e carboxílicos de fosfolipídios e confere estabilidade as proteínas, sobretudo as periféricas (MARSCHNER, 1995). Consequentemente, o  $\text{Ca}^{2+}$  é essencial para a

absorção seletiva de íons, bem como para evitar seu vazamento descontrolado. Além disso, o  $\text{Ca}^{2+}$  é essencial para o transporte intracelular e a comunicação intercelular por meio da corrente citoplasmática (SATTELMACHER et al., 1993). O  $\text{Ca}^{2+}$  ativa apenas algumas poucas enzimas, como  $\alpha$ -amilase, fosfolipases, cinase da adenina, cinase da arginina e  $\text{ATP}_{\text{ases}}$ . No caso específico de sementes de milho, a grande importância da ativação da  $\alpha$ -amilase na germinação, pois desencadeia todo o processo germinativo (SATTELMACHER et al., 1993).

Por sua vez, o magnésio é componente da molécula de clorofila e ativador de muitas enzimas, enquanto o cálcio desempenha importantes funções como componente da parede celular, como cofator de enzimas, envolvido na permeabilidade da membrana celular, e também como componente da calmodulina, que é regulador de membrana e atividade enzimática. O potássio está envolvido na osmose e balanço iônico e na abertura e fechamento de estômatos, além de ser ativador de muitas enzimas (RAVEN et al., 2001).

Numerosas enzimas requerem ou são estimuladas pelo  $\text{Mg}^{2+}$ , sendo as mais conhecidas fosfatases,  $\text{ATP}_{\text{ases}}$ , carboxilases, cinases, enolase e polimerase. A importância do  $\text{Mg}^{2+}$  é comumente associada ao seu papel na estrutura da clorofila. Contudo, apenas uma pequena fração (<25%) do total de  $\text{Mg}^{2+}$  nas plantas é necessária à síntese da clorofila ou nas suas várias outras funções no cloroplasto ou citoplasma. Outra pequena fração de elemento (5 a 10% do total) acompanha o  $\text{Ca}^{2+}$  na formação de lamela média da parede celular. A maior parte deste  $\text{Mg}^{2+}$  (~70%) atua no vacúolo como contraparte de ânions de ácidos orgânicos e inorgânicos (MARSCHNER, 1995).

A atividade de grande número de enzimas participantes do metabolismo vegetal, inclusive a germinação, depende de potássio. Algumas participam das reações da fotossíntese, da respiração, da síntese de amidos, proteínas e lignina, como a piruvato cinase, amido sintase, desidrogenases e aldolases (SUELTER, 1970). As  $\text{ATP}_{\text{ases}}$  são ativadas pelo  $\text{Mg}^{2+}$ , e sua atividade é favorecida pelo  $\text{K}^+$ , daí a importância desse elemento no metabolismo energético da planta.

### 2.3.1. Avaliação da composição mineral de sementes

Os métodos para a determinação de espécies de fósforo são complexos devido às dificuldades em extraí-las, separá-las ou purificá-las. As etapas envolvidas nas análises ou dificuldades de acesso aos equipamentos dificultam a implementação dos métodos em alguns laboratórios (VIEIRA, 2003).

Catalisadores biológicos específicos, que apresentam atividades em condições bem definidas, como por exemplo, enzimas, têm sido utilizadas em condições químicas cujo produto é de interesse analítico. Fitases têm sido utilizadas na hidrólise do fitato, principal fonte de fósforo nos alimentos. Um dos principais produtos da hidrólise do fitato é o ortofosfato (VIEIRA, 2003).

A análise de uma amostra busca a obtenção do melhor resultado, no menor tempo, com mínima contaminação, baixo consumo de reagentes e pequena geração de resíduos e efluentes. A preparação da amostra é etapa crítica dentro do protocolo analítico, consumindo cerca de 60 % do tempo total da análise e, nesta etapa, o analito de interesse é disponibilizado para posterior determinação (OLIVEIRA, 2001), necessitando ser bem planejada e executada.

Não há relatos de possíveis associações entre o nível de vigor de amostras de sementes e a degradação de fitato (a principal reserva de fósforo das sementes) e a consequente disponibilização de fósforo para o metabolismo. O importante papel desempenhado pelo fósforo no suprimento de energia para o processo metabólico que caracteriza a germinação sugere que essa associação é provável.

Embora grande número de testes tenham sido desenvolvidos e propostos para determinação de fósforo inorgânico, (azul de molibdênio, eletrodo de cobalto, imobilização de enzimas), e fósforo, cálcio, magnésio e potássio (HPLC), neste trabalho apenas alguns serão destacados, os quais foram utilizados na avaliação das sementes.

### 2.3.1.1. Análise por injeção em fluxo (FIA)

Conhecer o teor dos minerais em sementes é tão importante quanto conhecer as formas em que o elemento encontra-se, este processo é chamado especiação química. Especiação química é definida como a atividade de identificação e quantificação de uma ou mais espécies químicas individuais na amostra (TEMPLETON et al., 2000).

O desenvolvimento e o aperfeiçoamento de técnicas e métodos de análise para obtenção de melhores resultados, minimização da intervenção humana nas etapas analíticas e diminuição de erros estão entre os principais objetivos das pesquisas em química analítica nas últimas décadas. A aplicação de sistemas em fluxo em análises químicas (FIA) possibilitou a diminuição dos custos e o aumento da confiabilidade dos resultados (VIEIRA, 2003).

Este sistema surgiu como alternativa ao sistema em fluxo contínuo segmentado (CFA), e pode ser definido como um processo de mecanização de procedimentos analíticos, no qual a amostra em solução aquosa é introduzida em fluido transportador em direção ao detector. Durante o transporte, a amostra pode receber reagentes, passar por reações químicas e passar por etapas de separação, concentração (REIS et al., 1989).

Ao considerar os problemas relacionados à determinação de espécies de fósforo em amostras biológicas e a necessidade de se conhecer a qualidade das sementes, o método de molibdovanadofosfato é muito utilizado em laboratórios como rotina, o qual pode ser adaptado ao uso pelo sistema FIA (VIEIRA, 2003). Neste método, há formação do complexo colorido na determinação do fósforo pelo método amarelo de molibdênio, que ocorre pela reação de  $\text{PO}_4^{3-}$  com molibdato ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) em solução ácida para formar o ácido 12-molibdofosfórico, que apresenta coloração amarela, cuja intensidade pode ser medida por espectrofotômetro em comprimento de onda próximo a 400 nm. O método é denominado molibdofosfórico e, quando é adicionado metavanadato ao ácido 12-molibdofosfórico, o método é chamado molibdovanadofosfato oficialmente. Este método é o recomendado pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995) para determinação de fósforo em fertilizantes, não

sendo recomendado para soluções de coloração amarela ou que contenham íons que, assim como o fosfato, formem compostos coloridos com o molibdato.

### **2.3.1.2. Espectrometria de emissão ótica acoplada a plasma de argônio induzido (ICP-OES)**

A técnica de ICP tem sido recomendada como boa opção para várias de aplicações face sua grande versatilidade, a qual se deve não apenas ao grande número de elementos que pode ser determinado rápida e simultaneamente, em níveis de traços, mas também à variedade de tipos e origens de amostras. Seu funcionamento baseia-se em plasma, que é um gás altamente energizado, obtido pela passagem de fluxo de gás, em geral argônio, por uma região onde se encontra uma bobina de indução, alimentada por sistema gerador de radiofrequência. (CIENFUEGOS & VAITSMAN, 2000).

Por definição, quando se aplica corrente elétrica em uma bobina, é criado um campo magnético. Por este campo magnético passa um fluxo de gás, tornando-o condutivo. Quando o gás condutivo juntamente com a descarga de elétrons chega ao início do campo magnético as partículas eletricamente carregadas, íons e elétrons, são acelerados no campo magnético oscilante e ocorre um processo de aquecimento por colisões entre espécies existentes. Este aquecimento pode atingir 10.000 °K, garantindo a completa atomização da amostra injetada e gerando espectro atômico extremamente rico em comprimentos de onda de interesse analítico. O plasma é instantaneamente formado e mantido, na forma toroidal, enquanto o fluxo de gás e a alimentação da bobina de indução permanecem constantes (CIENFUEGOS & VAITSMAN, 2000).

A alta temperatura produzida pelo ICP possibilita a determinação de modo extremamente sensível de alguns elementos que normalmente, apresentam grandes dificuldades em outras técnicas analíticas, como metais refratários, terras raras e elementos leves, como o boro (CIENFUEGOS & VAITSMAN, 2000).

A fonte de plasma de acoplamento indutivo inclui três tubos concêntricos de sílica/quartzo abertos na parte superior. A corrente de argônio que carrega a amostra



na forma aerossol flui pelo tubo central. A excitação é fornecida por dois ou três passos de um tubo metálico de indução em espiral, por onde passa uma corrente de radiofrequência (~27MHz). Um segundo fluxo de argônio, na vazão de 10 a 15 L·min<sup>-1</sup>, estabiliza o plasma. É esta corrente gasosa que é excitada pela fonte de radiofrequência. O gás de plasma flui em trajetória helicoidal, que estabiliza e ajuda a isolar termicamente o tubo de quartzo mais externo. O plasma é iniciado por uma centelha provocada por transformador de Tesla e depois se auto-sustenta. O plasma tem perfil toroidal e a amostra passa pelo centro relativamente frio do toróide (VOGEL, 1981).

Três tipos de plasma de alta temperatura são encontrados (1) o plasma indutivamente acoplado (em inglês, 'inductively coupled plasma' – ICP), (2) o plasma de corrente contínua (em inglês, 'direct current plasma' – DCP), e (3) o plasma induzido por microondas (em inglês, 'microwave induced plasma' – MIP). As primeiras duas fontes são comercializadas por muitas companhias. A fonte de plasma induzido por microondas não é muito empregada para análise elementar em geral principalmente porque não é comercializada por fabricantes de instrumentos (SKOOG et al., 2002).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Local**

As atividades experimentais foram desenvolvidas no primeiro semestre de 2008 no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Estadual Paulista, *Campus* Jaboticabal-SP (Unesp/Jaboticabal) e na Embrapa Pecuária Sudeste (Fazenda Canchim), São Carlos-SP.

#### **3.2. Amostras**

Foram utilizadas amostras de 20 lotes de sementes de *Zea mays* L., uniformes quanto ao tamanho (peneira R2G) de um híbrido simples da Monsanto do Brasil Ltda., cuja identificação precisa não foi revelada por razões comerciais. Dez das amostras (Lotes 01 a 10) representaram lotes produzidos em Ipuã - SP (latitude 20°26'17" S, longitude 48°00'44" O, altitude 555 m) colhidas na safra de verão 2006/07 e as outras dez (Lotes 11 a 20) representaram lotes produzidos em Uberlândia - MG (latitude 18°55'08" S, longitude 48°16'37" O, altitude 863 m) na safra de inverno de 2007.

#### **3.3. Armazenamento**

Entre a colheita e a realização dos experimentos, as sementes permaneceram armazenadas em câmara fria e seca (10 °C, 60 % de umidade relativa do ar) na sede da Monsanto do Brasil Ltda. em Uberlândia (MG).

### **3.4. Determinações e testes**

#### **3.4.1. Massa de 50 sementes**

As amostras foram homogeneizadas e separadas com o auxílio de divisor. De cada uma delas foram contadas oito repetições de 50 sementes e pesadas em balança analítica com quatro casas decimais.

#### **3.4.2. Teste de germinação**

Oito subamostras de 50 sementes foram semeadas em rolo composto por três folhas de papel toalha Germitest<sup>®</sup> umedecidos com um volume (mL) de água equivalente a 2,5 vezes a massa (g) do substrato seco. O teste foi conduzido sob a temperatura de 25°C. As avaliações foram realizadas no quarto e no sétimo dias após a semeadura, de acordo com as recomendações e as prescrições das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

#### **3.4.3. Teste de condutividade elétrica**

Foram utilizadas quatro subamostras de 50 sementes, previamente pesadas com precisão de quatro casas decimais (0,0001 g), que foram imersas em 75 mL de água e incubadas a 25 °C por 24 horas. Após este período, foi feita leitura da condutividade elétrica com o auxílio de um condutímetro DIGIMED modelo 31, sendo os resultados expressos em  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  de sementes (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

#### **3.4.4. Teste de emergência de plântulas em campo**

Foram semeadas no campo cinco repetições de 100 sementes, em linhas de um metro de comprimento, distanciadas 15 cm entre si e a, aproximadamente, 2 cm de

profundidade em solo úmido. Decorridos 14 dias, foi feita contagem do número de plântulas emersas conforme os procedimentos descritos por MARCOS FILHO et al.(1987) e os resultados foram expressos em porcentagem.

#### **3.4.5. Teste de frio**

Foi conduzido com quatro subamostras de 50 sementes, semeadas em caixas plásticas contendo substrato constituído de mistura de solo e areia na proporção de 1 :1; uma vez semeadas e umedecidas, foram mantidas a 10 °C durante sete dias e, posteriormente, transferidas para ambiente não controlado (bancada de laboratório) por sete dias, durante os quais foram feitas contagens de plântulas emersas. Os resultados foram expressos em porcentagem.

#### **3.4.6. Análise de minerais**

##### **3.4.6.1. Preparo das amostras para avaliação pelos métodos FIA e ICP-OES**

Foram semeadas quatro subamostras de 100 sementes de cada lote de acordo com os mesmos procedimentos utilizados para o teste de germinação descrito. Decorridas 12 h, 24 h, 36 h e 48 h após o início da germinação as sementes foram removidas dos rolos, colocadas em tubos de vidro tipo 'snap-cap' previamente desmineralizados pelo banho de solução de HCl 10 % por 24 horas e secas a 100 °C por 24 h ; uma amostra testemunha de cada lote, representada por sementes originais, não germinadas, foi também submetidas aos mesmos procedimentos. As amostras secas foram moídas em moinho de facas (Marconi MA630), novamente acondicionadas em 'snap-caps' tampados e armazenadas em câmara mantida a 10 °C e 20 % de umidade relativa do ar até serem utilizadas. Foram obtidas quatro repetições para cada lote para cada tempo de germinação. Para realização das análises, foi pesado 0,4 g de sementes moídas que foram colocados em tubos plásticos tipo Falcon<sup>®</sup>, com capacidade para 15 mL que receberam também 12 mL de água Mili-Q<sup>®</sup> a

95 °C Esses tubos foram mantidos sob agitação contínua por 30 minutos, após agitação foram centrifugados por 10 minutos a 3.000 rpm. Alíquotas do sobrenadante foram submetidas às análises minerais pelo métodos FIA e ICP-OES.

#### **3.4.6.2. Análise por injeção em fluxo (FIA)**

O sistema usado fundamentou-se no método molibdovanadofosfato (AOAC, 1995) com solução molibdato de amônio 1,6 % (Reagente 1) e de metavanadato de amônio 0,08 % (Reagente 2). Este sistema é utilizado para determinar concentração de fósforo inorgânico. Foi utilizado injetor-comutador manual (REIS & BERGAMIN FILHO, 1993) para injeção das amostras, alça de amostragem de 10 cm, e bomba peristáltica de velocidade 10 (marca Ismatec<sup>®</sup>) equipada com tubos tipo Tygon<sup>®</sup>. Alíquotas de sobrenadantes foram aspiradas por um tubo; no processo, as alíquotas misturaram-se primeiro com o Reagente 1 e, a seguir, com o Reagente 2 e passam por banho termostático. A solução resultante foi avaliada em espectrofotômetro, regulado para leituras no comprimento de onda 420 nm. Os registros do espectrofotômetro permitiram o cálculo das concentrações pelas de interpolações feitas em curva plotada a partir de concentrações de calibração (curva padrão).

#### **3.4.6.3. Espectrometria de emissão ótica acoplada a plasma de argônio induzido (ICP-OES)**

Este sistema foi utilizado para determinar níveis de fósforo, cálcio, magnésio e potássio. Nessa avaliação a alíquota da amostra foi arrastada para o plasma de argônio com nebulizador de fluxo cruzado na vazão 1 mL min<sup>-1</sup>. Os parâmetros operacionais foram: rádio-frequência do gerador 40 MHz, potência 1,0 kW, vazão do gás do plasma 15 L min<sup>-1</sup>, vazão do gás auxiliar 1,5 L min<sup>-1</sup>, vazão do gás de nebulização 0,9 L min<sup>-1</sup>, vazão de nebulização 0,8 mL min<sup>-1</sup>, diâmetro interno do tubo central 2,4 mm, câmara de nebulização Sturman Masters<sup>®</sup>, nebulizador ranhura em V e os comprimentos de ondas

para P 177,434 nm, Ca 396,847 nm, K 766,491 nm e Mg 279,553 nm. Os resultados foram obtidos em ppm e posteriormente convertidos  $\mu\text{g g}^{-1}$  pela curva de calibração.

#### **3.4.7. Delineamento experimental**

Os ensaios foram instalados de acordo com o delineamento experimental inteiramente casualizado, exceto o ensaio de emergência em campo, para o qual foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso. As análises estatística foram feitas no programa SAEG (2007). Os dados foram previamente submetidos a análise de normalidade e de homogeneidade;. Um vez verificado esse requisito, os dados foram submetidos à análise de variância, teste de comparação de médias (SCOTT-KNOTT) e teste de correlação (Pearson). Os resultados dos testes de germinação e de avaliação do nível de vigor das amostras foram correlacionados aos teores dos vários nutrientes quantificados.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Massa de 50 sementes

Os lotes diferiram entre si ( $p \leq 0,05$ ) quanto à massa de 50 sementes, à condutividade elétrica e às porcentagens de germinação, de emergência de plântulas em campo e de germinação em teste frio (Tabela 1). Os resultados permitiram agrupar os lotes em dois grupos distintos ( $p \leq 0,05$ ); tal distinção pode estar refletindo condições ambientais (locais e anuais), de manejo agrônômico do campo de produção e demais procedimentos a que foram submetidas os lotes de sementes. Os lotes escolhidos para o ensaio haviam sido submetidos ao mesmo processamento (peneira R2G), de forma que é pouco provável que as dimensões das sementes tiveram efeitos consideráveis sobre os resultados. Verificou-se (Tabela 2), entretanto, que quanto maior a massa das sementes, maiores foram as porcentagens de germinação, de emergência de plântulas em campo e de germinação em teste frio ( $p \leq 0,01$ ). Tal correlação ocorreu de forma consistente, tanto que os grupos constituídos pelas médias obtidas nas avaliações desses parâmetros de desempenho fisiológico incluíram os mesmos lotes agrupados estatisticamente com base na massa de sementes, com exceção do lote 17 (Tabela 1).

Não há consenso científico sobre a influência do tamanho da semente de milho na qualidade fisiológica. Alguns autores afirmam que essa influência não ocorre (MARCOS FILHO et al., 1987; CARVALHO & NAKAGAWA, 2000; MARTINELLI et al. 1997 e MARTINS et al., 1997) enquanto outros sugerem que o tamanho é fator determinante do potencial de germinação e que sementes grandes apresentaram maior porcentagem de germinação que as pequenas (SCOTTI & GODOY, 1978; MENEZES et al., 1991).

MARTINELLI-SENEME et al. (2000) afirmam que, por apresentarem maior massa que as sementes achatadas de largura, espessura e comprimento similares, as sementes redondas tem maior probabilidade de sofrer danos mecânicos e isso pode influenciar seu desempenho avaliado pelos testes de vigor. De acordo com CARVALHO

& NAKAGAWA (2000), a variação observada entre espécies quanto ao desempenho fisiológico de sementes pode ser atribuído ao fato de que em algumas espécies, o embrião fica mais exposto sendo, dessa forma, mais susceptível a danos mecânicos.

**Tabela 1. Caracterização da qualidade de vinte lotes de sementes de milho híbrido pela massa de 50 sementes (MASSA), condutividade elétrica (CE), teste padrão de germinação (TPG), emergência de plântulas em campo (EC), teste frio (TF).\***

LOTES	MASSA (g)	TPG (%)	CE ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	EC (%)	TF
01	19,48 A	94 A	14,50 B	93 A	98 A
02	19,40 A	93 A	18,61 A	94 A	97 A
03	19,42 A	95 A	15,83 B	98 A	100 A
04	19,49 A	95 A	16,56 B	97 A	99 A
05	19,68 A	96 A	14,82 B	98 A	98 A
06	19,57 A	96 A	18,20 A	97 A	97 A
07	19,56 A	97 A	18,18 A	97 A	99 A
08	19,73 A	95 A	17,71 A	97 A	97 A
09	19,60 A	98 A	18,71 A	94 A	98 A
10	19,52 A	96 A	16,02 B	93 A	99 A
11	19,00 B	87 B	15,79 B	87 B	92 B
12	19,24 B	89 A	16,63 B	85 B	92 B
13	19,22 B	88 B	16,44 B	92 B	95 B
14	19,28 B	85 B	15,59 B	91 B	93 B
15	18,98 B	86 B	16,37 B	90 B	93 B
16	19,14 B	85 B	14,41 B	91 B	92 B
17	19,57 A	85 B	16,42 B	92 B	93 B
18	19,29 B	87 B	15,25 B	88 B	92 B
19	19,09 B	88 B	14,96 B	87 B	92 B
20	19,13 B	88 B	13,99 B	90 B	92 B
<b>Média</b>	19,37	91,12	16,22	92,54	95,18
<b>Desvio padrão</b>	0,3	9,25	1,89	5,39	2,01
<b>CV (%)</b>	1,2	4,39	9,21	4,56	3,24

\*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste SCOTT-KNOTT ( $p \leq 5\%$ ).

**Tabela 2. Coeficientes de correlação de Pearson entre os dados médios de massa (g) de 50 sementes (50S), de porcentagens (%) de plântulas normais resultantes do teste padrão de germinação (TPG), de emergência de plântulas em campo (EC) e de teste frio (TF), e de condutividade elétrica (CE) em ( $\mu\text{S.cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  de semente) resultantes da avaliação de vinte lotes de sementes milho híbrido**

	50 S	TPG	CE	EC	TF
<b>P 50</b>	1,00**				
<b>TPG</b>		0,41**	0,05 <sup>ns</sup>	0,40**	0,27**
<b>CE</b>			1,00**	0,39**	0,47**
<b>EC</b>				1,00 <sup>ns</sup>	0,26**
<b>TF</b>					1,00**

Valores seguidos por **ns** não foram significativos, \* foram significativos com 95% de probabilidade ( $p \leq 5\%$ ) e \*\* foram significativos com 99% de probabilidade ( $p \leq 1\%$ ).



#### **4.2. Teste de germinação**

Os lotes comparados diferiram entre si ( $p \leq 5\%$ ) quanto às porcentagens de plântulas normais observadas no teste de germinação e dois grupos de lotes puderam ser identificados. O grupo de melhor germinação variou de 89 a 98 %, e o de menor germinação variou de 85 a 88 % (Tabela 1). Conforme já discutido, esse agrupamento mostrou-se correlacionado à massa das sementes. Verificou-se também correlações ( $p \leq 1\%$ ) com os resultados obtidos nos testes de emergência de plântula e frio (Tabela 2).

#### **4.3. Teste de condutividade elétrica**

No teste de condutividade elétrica (Tabela 1), cinco lotes (02, 06, 07, 08 e 09) apresentaram leituras superiores, indicativa de menor vigor, pois apresentaram maior liberação de eletrólitos. Estes mesmos lotes, entretanto, apresentaram também os melhores resultados para o teste de germinação, de emergência de plântulas e de frio, ou seja, fato que os caracteriza como de maior vigor.

No trabalho de MARTINELLI-SENEME et al. (2000), peso e a forma das sementes de milho influenciaram o desempenho das diferentes classes; as sementes redondas apresentaram maior peso do que as achatadas, o que pode ter acarretado maior porcentagem de danos mecânicos, influenciando de forma negativa seu comportamento nos testes de vigor conduzidos no laboratório. Esse fato pode explicar os resultados aqui relatados.

#### **4.4. Teste de emergência de plântulas em campo**

Também no teste de emergência de plântulas (Tabela 1), os lotes foram segregados em dois grupos ( $p \leq 5\%$ ) e os resultados variaram entre 85 % (lote 12) e 98 % (lotes 03 e 05). Os resultados desse teste correlacionaram-se com os resultados

de todos os demais testes de qualidade fisiológica ( $p \leq 0,01$ ), exceto o de condutividade elétrica (Tabela 2).

#### **4.5. Teste de frio**

Os mesmos lotes identificados como de desempenho superior ( $p \leq 5\%$ ) no teste de frio (Tabela 1) foram também os que resultaram em maior emergência no teste de emergência de plântulas em campo. Verificou-se também, que os resultados desse teste se correlacionaram com os demais testes de avaliação de vigor e com a massa de sementes (Tabela 2). Pelo teste de comparação de médias ( $p \leq 5\%$ ) os lotes apresentaram agrupamento similar para os testes de germinação, emergência de plântulas em campo e teste frio, com exceção do lote 12, que no teste de germinação se manteve no grupo que foi superior estatisticamente (Tabela 1).

Assim, verificou-se que o agrupamento dos lotes quanto ao desempenho, quando avaliado pelo teste de germinação, refletiu a qualidade fisiológica dos lotes tão bem quanto outros testes de avaliação de vigor utilizados nesse trabalho. À exceção de poucos lotes, os resultados obtidos mostraram-se positivamente correlacionados à massa das sementes. Esse comportamento pode ser atribuído ao fato de que as amostras permaneceram armazenadas em câmara fria e seca pela empresa produtoras de tal forma que as características originais de qualidade dos lotes, ou seja, aquelas alcançadas pelos lotes até a ocasião do seu processamento final foram preservadas. Sob condições menos propícias de armazenamento, possíveis correlações entre massa e desempenho das sementes talvez pudessem ser evidenciadas.

#### **4.6. Fósforo inorgânico**

Com base nos teores de fósforo inorgânico (Pi) encontrados nas sementes testemunha e após 12 e 24 horas (h) do início da germinação foram identificados dois grupos de lotes, enquanto que após 36 h e 48 h, três grupos puderam ser identificados (Tabela 3). Os lotes que fizeram parte de cada grupo após cada período de germinação

não foram os mesmos, indicando a inexistência de correlação entre os valores determinados, fato que foi corroborado pelos resultados da análise de correlação mostrados na Tabela 4. Isso significa que uma semente com alto teor de Pi não necessariamente apresentará níveis também altos nas etapas da germinação. Tais níveis podem ser influenciados por demanda metabólica variável durante a germinação em consequência de taxas variáveis de disponibilização (catabolização de tecidos e de estruturas de reservas mineiras da semente), de utilização (respiração, por exemplo) e de incorporação metabólica.

**Tabela 3. Teores de fósforo inorgânico (Pi) detectados em amostras de sementes de milho híbrido em cinco períodos (horas) após início da germinação.\***

LOTES	Fósforo inorgânico ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ sementes <sup>1</sup> )				
	Testemunha <sup>2</sup>	Horas após o início da germinação			
		12	24	36	48
01	237,2 A	309,1 A	279,3 B	264,2 C	185,9 B
02	288,1 A	322,3 A	365,0 A	295,3 B	192,4 B
03	241,4 A	327,2 A	305,6 A	295,7 B	189,4 B
04	182,6 A	280,4 A	273,2 B	357,7 A	161,2 C
05	187,4 A	291,0 A	305,6 A	333,5 A	186,7 B
06	117,3 B	332,8 A	234,0 B	325,7 A	226,6 A
07	169,8 B	299,3 A	250,9 B	242,5 C	221,4 A
08	106,7 B	326,5 A	339,4 A	270,4 C	151,2 C
09	113,2 B	289,4 A	266,8 B	249,3 C	209,4 A
10	119,1 B	287,7 A	238,3 B	250,4 C	221,3 A
11	119,5 B	242,4 B	333,1 A	297,3 B	176,1 B
12	106,2 B	244,8 B	339,3 A	321,8 A	148,1 C
13	214,1 A	200,1 B	306,8 A	269,8 C	139,0 C
14	227,6 A	243,3 B	335,3 A	223,1 C	171,6 B
15	192,2 A	237,2 B	310,5 A	260,5 C	175,0 B
16	284,0 A	248,6 B	331,4 A	248,0 C	152,0 C
17	219,5 A	231,8 B	256,3 B	240,1 C	180,8 B
18	258,5 A	211,6 B	238,3 B	237,4 C	191,9 B
19	265,8 A	282,0 A	193,3 B	266,6 C	181,9 B
20	251,7 A	185,2 B	264,2 B	253,4 C	177,2 B
<b>Média</b>	195,1	269,6	288,3	275,1	182,0
<b>Desvio padrão</b>	82,4	59,5	53,1	44,0	30,3
<b>CV%</b>	32,0	17,3	11,5	10,5	11,5

<sup>1</sup> Sementes secas e moídas.

<sup>2</sup> Número de horas após o início do teste de germinação conduzido a 20°C em rolos de papel úmido.

\* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste SCOTT-KNOTT ( $p \leq 5\%$ ).

Por outro lado, os valores de Pi avaliados após 12 h de germinação classificaram os lotes da mesma forma feita pelos demais testes de avaliação da qualidade fisiológica dos lotes, revelando portanto idêntica sensibilidade. As correlações positivas ( $p \leq 0,01$ )

detectadas entre os valores dessa avaliação e dos valores resultantes dos demais testes aplicados às sementes (Tabela 4) confirmaram esse fato.

**Tabela 4. Coeficiente de correlação de Pearson entre os dados resultantes da avaliação dos teores de fósforo inorgânico (Pi,  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em sementes de milho híbrido, em cinco períodos (horas) após início da germinação.**

Horas após início da germinação	Horas após início da germinação				
	Testemunha	12	24	36	48
0	1,00**	-0,10 <sup>ns</sup>	-0,01 <sup>ns</sup>	-0,17 <sup>ns</sup>	-0,10 <sup>ns</sup>
12		1,00**	0,00 <sup>ns</sup>	0,16 <sup>ns</sup>	0,29**
24			1,00**	0,18*	-0,42**
36				1,00**	-0,04 <sup>ns</sup>
48					1,00**

Valores seguidos por **ns** não foram significativos, \* foram significativos com 95% de probabilidade ( $p \leq 5\%$ ) e \*\* foram significativos com 99% de probabilidade ( $p \leq 1\%$ ).

Por outro lado, os valores de Pi avaliados após 12 h de germinação classificaram os lotes da mesma forma feita pelos demais testes de avaliação da qualidade fisiológica dos lotes, revelando portanto idêntica sensibilidade. As correlações positivas ( $p \leq 0,01$ ) detectadas entre os valores dessa avaliação e dos valores resultantes dos demais testes aplicados às sementes (Tabela 4) confirmaram esse fato.

O mesmo não aconteceu com os valores obtidos em avaliações posteriores. Os períodos de 36 h e 48 h permitiram classificar os lotes de sementes em três grupos. Comparativamente aos testes de avaliação de qualidade fisiológica, isso poderia representar maior sensibilidade desses procedimentos; entretanto, os lotes por ele agrupados não foram consistentes com os agrupamentos resultantes de nenhum dos demais testes aplicados. Após 48 h, além de os lotes serem classificados em três grupos, verificou-se correlação dos níveis de Pi com os resultados de todos os testes de qualidade aplicados; a avaliação de Pi nessa ocasião também foi, portanto, apropriada para permitir a comparação de níveis de vigor entre lotes de sementes.

Os níveis de Pi encontrados na testemunha correlacionaram-se de forma negativa com a massa de sementes (Tabela 5); este fato pode ser atribuído a efeito de diluição, ou seja, em sementes de maior massa as quantidades de minerais na reserva talvez ocorram em menor proporção.

De um modo geral, os níveis de Pi diminuíram entre a testemunha e 48 h (Tabela 3), possivelmente indicando uma progressiva incorporação desse mineral em

compostos dos quais o método de extração utilizado não foi capaz de extrair. O padrão aparentemente errático de disponibilização de Pi, bem como de outros minerais durante a germinação verifica-se também em outras espécies e pode ser característico para cada mineral (SANGRONIS & MACHADO, 2007).

Desta forma, os valores de correlação mostrados na Tabela 4 revelam valores não significativos, com exceção de lotes que apresentaram correlação positiva entre os níveis detectados após 12 h e 48 h ( $p < 0,01$ ) e após 24 h e 36 h ( $p < 0,05$ ), indicando que, à medida que os teores de Pi aumentam nos tempos 12 h e 24 h, aumentou 48 h e 36 h respectivamente. Já na interação 24 h com 48 h houve uma correlação negativa ( $p < 0,01$ ), que indica que à medida que os teores no tempo 24 h aumenta, há um decréscimo nos teores no tempo 48 h.

**Tabela 5. Coeficiente de correlação de Pearson entre os dados de cinco parâmetros de avaliação da qualidade de amostras de sementes de milho híbrido e os teores de fósforo inorgânico (Pi,  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) detectados em cinco períodos (horas) após início da germinação.**

Parâmetro de qualidade	Horas após início da germinação				
	Testemunha	12	24	36	48
Massa de 50 sementes (g)	-0,20*	0,26**	-0,08 <sup>ns</sup>	0,13 <sup>ns</sup>	0,21*
Teste de germinação (%)	-0,31**	0,53**	-0,12 <sup>ns</sup>	0,21*	0,32**
Condutividade elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	-0,24**	0,30**	-0,01 <sup>ns</sup>	0,07 <sup>ns</sup>	0,33**
Emergência em campo (%)	-0,11 <sup>ns</sup>	0,28**	0,00 <sup>ns</sup>	0,16 <sup>ns</sup>	0,20*
Teste frio (%)	-0,16 <sup>ns</sup>	0,42**	0,02 <sup>ns</sup>	0,15 <sup>ns</sup>	0,19*

Valores seguidos por **ns** não foram significativos, \* foram significativos com 95% de probabilidade ( $p \leq 5\%$ ) e \*\* foram significativos com 99% de probabilidade ( $p \leq 1\%$ ).

#### 4.7. Fósforo

Com base nos teores de fósforo (P) solúvel em água determinados nas sementes (Tabela 6) pelo método utilizado, na testemunha e após 12 h e 24 h do início da germinação, foram identificados dois grupos de lotes, enquanto que após 36 h e 48 h, três e quatro grupos, respectivamente, puderam ser identificados ( $p \leq 5\%$ ).

As avaliações de P após 12 h, 36 h e 48 h de germinação resultaram em valores que se correlacionaram aos resultados dos testes de vigor (Tabela 7), com exceção da massa de sementes para o tempo 36 h. Adicionalmente, os resultados obtidos após 36 h e 48 h permitiram a identificação, respectivamente, de três e de quatro grupos de

lotes, indicando maior sensibilidade na diferenciação de lotes quanto aos níveis de vigor. Nesses casos, verifica-se que as ordens de classificação de níveis de vigor possibilitadas pelas avaliações após esses dois períodos, foram coerentes com os agrupamentos resultantes dos testes de vigor

**Tabela 6. Teores de fósforo (P) detectados em amostras de sementes de milho híbrido em cinco períodos (horas) após início da germinação.\***

LOTES	Fósforo ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ sementes <sup>1</sup> )					
	Testemunha <sup>2</sup>	Horas após o início da germinação				
		12	24	36	48	
01	351,3 B	480,7 A	301,4 B	336,1 B	256,2 B	
02	447,7 A	504,6 A	383,1 A	416,2 A	260,1 B	
03	427,1 A	507,6 A	324,0 B	403,4 A	252,7 B	
04	316,6 B	493,5 A	365,0 A	417,5 A	226,3 C	
05	316,1 B	491,8 A	349,5 A	382,2 A	276,9 A	
06	239,6 B	541,5 A	323,3 B	364,1 B	300,2 A	
07	343,4 B	492,8 A	319,2 B	313,7 C	307,5 A	
08	283,3 B	458,3 A	411,5 A	349,6 B	222,8 C	
09	266,8 B	462,0 A	395,5 A	353,3 B	287,2 A	
10	264,6 B	516,5 A	350,9 A	333,8 B	278,6 A	
11	222,0 B	336,5 B	356,6 A	371,2 B	218,4 C	
12	208,2 B	293,9 B	337,7 B	350,7 B	179,3 D	
13	438,6 A	245,0 B	304,9 B	299,6 C	174,5 D	
14	413,9 A	270,0 B	300,9 B	290,5 C	207,4 C	
15	419,4 A	304,1 B	299,3 B	292,0 C	196,0 D	
16	491,0 A	273,0 B	427,9 A	299,1 C	173,1 D	
17	403,2 A	273,2 B	346,6 A	276,8 C	218,1 C	
18	451,8 A	247,2 B	305,4 B	268,9 C	234,9 C	
19	488,3 A	296,4 B	250,2 B	292,5 C	191,3 D	
20	445,1 A	211,6 B	394,0 A	281,3 C	199,6 D	
<b>Média</b>	361,9	385,0	342,3	334,6	233,1	
<b>Desvio padrão</b>	120,8	126,9	57,6	56,7	45,4	
<b>CV%</b>	25,5	16,4	12,5	11,2	9,0	

<sup>1</sup> Sementes secas e moídas.

<sup>2</sup> Número de horas após o início do teste de germinação conduzido a 20°C em rolos de papel úmido.

\* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de SCOTT-KNOTT ( $p \leq 5\%$ ).

Os valores correspondentes a testemunha mostraram-se negativamente relacionados a todos os testes de vigor (Tabela 7), revelando-se, portanto como um parâmetro inadequado para distinguir com confiabilidade lotes de sementes quanto ao vigor. Os valores negativos observados podem ter resultado do fato de que, na testemunha as sementes ainda não haviam iniciado o processo germinativo e, portanto, o mecanismo de catabolização das estruturas de reserva das sementes não havia ainda sido ativado.

**Tabela 7. Coeficiente de correlação de Pearson entre os dados de cinco parâmetros de avaliação da qualidade de amostras de sementes de milho híbrido e os teores de fósforo (P,  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) detectados em cinco períodos (horas) após início da germinação.**

Parâmetro de qualidade	Horas após início da germinação				
	Testemunha	12	24	36	48
Massa de 50 sementes (g)	-0,21 <sup>*</sup>	0,44 <sup>**</sup>	0,18 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>	0,47 <sup>**</sup>
Teste de germinação (%)	-0,37 <sup>**</sup>	0,69 <sup>**</sup>	0,06 <sup>ns</sup>	0,32 <sup>**</sup>	0,59 <sup>**</sup>
Condutividade elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	-0,21 <sup>*</sup>	0,33 <sup>**</sup>	0,11 <sup>ns</sup>	0,31 <sup>**</sup>	0,37 <sup>**</sup>
Emergência em campo (%)	-0,08 <sup>ns</sup>	0,48 <sup>**</sup>	0,16 <sup>ns</sup>	0,36 <sup>**</sup>	0,45 <sup>**</sup>
Teste frio (%)	-0,23 <sup>*</sup>	0,64 <sup>**</sup>	-0,06 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>**</sup>	0,45 <sup>**</sup>

Valores seguidos por **ns** não foram significativos, \* foram significativos com 95% de probabilidade ( $p \leq 5\%$ ) e \*\* foram significativos com 99% de probabilidade ( $p \leq 1\%$ ).

Os teores de P na testemunha relacionaram-se negativamente com os tempos 12 h, 36 h e 48 h ( $p \leq 1\%$ ) e não foi significativo para o tempo 24 h (Tabela 8). Desta forma, quanto maior o teor inicial de P, menores os teores nas etapas subseqüentes da germinação, possivelmente em consequência da incorporação desse elemento ao metabolismo e não foi detectado pelo método de extração utilizado.

**Tabela 8. Coeficiente de correlação de Pearson entre os dados resultantes da avaliação dos teores de fósforo (P,  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em sementes de milho híbrido, em cinco períodos (horas) após início da germinação.**

Horas após início da germinação	Horas após início da germinação				
	Testemunha	12	24	36	48
0	1,00 <sup>**</sup>	-0,35 <sup>**</sup>	-0,13 <sup>ns</sup>	-0,26 <sup>**</sup>	-0,26 <sup>**</sup>
12		1,00 <sup>**</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	0,52 <sup>**</sup>	0,66 <sup>**</sup>
24			1,00 <sup>**</sup>	0,16 <sup>ns</sup>	0,14 <sup>ns</sup>
36				1,00 <sup>**</sup>	0,34 <sup>**</sup>
48					1,00 <sup>**</sup>

Valores seguidos por **ns** não foram significativos, \* foram significativos com 95% de probabilidade ( $p \leq 5\%$ ) e \*\* foram significativos com 99% de probabilidade ( $p \leq 1\%$ ).

#### 4.8. Cálcio

Considerando-se os teores de cálcio (Ca) encontrados nas sementes na testemunha (Tabela 9), os lotes foram classificados em dois grupos ( $p \leq 5\%$ ). Por sua vez, os valores obtidos 12 h após o início da germinação não permitiram a diferenciação dos lotes. Após 36 h e 48 h do início do teste de germinação, foi possível identificar três grupos de lotes quanto ao nível de Ca. Entretanto, no tempo de 24 h, os lotes foram separados em seis grupos.

Correlacionando-se o teor de cálcio das sementes com os resultados dos testes de vigor (Tabela 10), com exceção do tempo 12 h, todos os demais tempos de germinação apresentaram correlação positiva. Os grupos diferenciados pelos teores de Ca encontrados após 24 h, 36 h e 48 h de germinação foram coerentes com aqueles diferenciados pelos testes de avaliação da qualidade fisiológica dos lotes. Ou seja, os lotes consistentemente identificados como de maior vigor por testes de qualidade fisiológica, corresponderam àqueles com os maiores teores de Ca nessas etapas da germinação.

**Tabela 9. Teores de Cálcio (Ca) detectados em amostras de sementes de milho híbrido em cinco períodos (horas) após início da germinação.\***

LOTES	Cálcio ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ sementes <sup>1</sup> )									
	Testemunha <sup>2</sup>		Horas após o início da germinação							
			12		24		36		48	
01	2,0	A	2,0	A	3,3	E	3,8	B	3,6	A
02	2,4	A	2,2	A	5,0	C	4,6	A	2,8	B
03	2,3	A	2,3	A	6,0	B	4,6	A	4,2	A
04	1,4	A	2,1	A	6,9	A	4,5	A	2,8	B
05	1,3	B	2,2	A	3,8	D	3,9	B	3,3	B
06	0,6	B	2,3	A	3,5	E	4,0	B	4,2	A
07	1,6	A	2,4	A	3,4	E	3,8	B	3,2	B
08	1,1	B	1,9	A	3,9	D	3,5	B	2,7	B
09	0,6	B	1,9	A	3,8	D	4,1	B	3,3	B
10	0,5	B	2,0	A	3,2	E	3,9	B	3,0	B
11	0,2	B	1,6	A	2,5	F	2,9	C	1,7	C
12	0,4	B	2,4	A	2,4	F	2,9	C	1,6	C
13	1,0	B	1,9	A	2,4	F	2,5	C	1,6	C
14	1,1	B	1,8	A	2,3	F	2,4	C	1,9	C
15	1,0	B	2,1	A	2,0	F	2,3	C	1,9	C
16	0,9	B	2,1	A	2,7	F	2,4	C	2,1	C
17	0,4	B	2,1	A	2,4	F	2,1	C	2,2	C
18	0,7	B	1,8	A	2,2	F	2,3	C	2,3	C
19	0,7	B	2,1	A	2,2	F	3,7	B	1,9	C
20	0,5	B	1,9	A	3,3	E	2,5	C	2,8	B
<b>Média</b>	1,0		2,1		3,4		3,3		2,7	
<b>Desvio padrão</b>	0,9		0,5		1,3		1,0		1,0	
<b>CV%</b>	66,1		27,3		11,6		15,2		25,5	

<sup>1</sup> Sementes secas e moídas.

<sup>2</sup> Número de horas após o início do teste de germinação conduzido a 20°C em rolos de papel úmido.

\* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de SCOTT-KNOTT ( $p \leq 5\%$ ).

Os teores de Ca iniciais nas sementes correlacionaram-se com os níveis encontrados após 24 h, 36 h e 48 h, ou seja, níveis iniciais altos de Ca mostraram-se associados aos níveis também altos desse mineral nos tempos mencionados.



**Tabela 10. Coeficiente de correlação de Pearson entre os dados de cinco parâmetros de avaliação da qualidade de amostras de sementes de milho híbrido e os teores de Cálcio (Ca,  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) detectados em cinco períodos (horas) após início da germinação.**

Parâmetro de qualidade	Horas após início da germinação				
	Testemunha	12	24	36	48
Massa de 50 sementes (g)	0,12 <sup>ns</sup>	-0,02 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>**</sup>	0,30 <sup>**</sup>	0,41 <sup>**</sup>
Teste de germinação (%)	0,15 <sup>ns</sup>	0,22 <sup>*</sup>	0,39 <sup>**</sup>	0,47 <sup>**</sup>	0,47 <sup>**</sup>
Condutividade elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	0,07 <sup>ns</sup>	0,19 <sup>*</sup>	0,22 <sup>*</sup>	0,32 <sup>**</sup>	0,16 <sup>ns</sup>
Emergência em campo (%)	0,31 <sup>**</sup>	0,06 <sup>ns</sup>	0,47 <sup>**</sup>	0,43 <sup>**</sup>	0,50 <sup>**</sup>
Teste frio (%)	0,30 <sup>**</sup>	0,18 <sup>*</sup>	0,48 <sup>**</sup>	0,55 <sup>**</sup>	0,43 <sup>**</sup>

Valores seguidos por **ns** não foram significativos, \* foram significativos com 95% de probabilidade ( $p \leq 5\%$ ) e \*\* foram significativos com 99% de probabilidade ( $p \leq 1\%$ ).

**Tabela 11. Coeficiente de correlação de Pearson entre os dados resultantes da avaliação dos teores de Cálcio (Ca,  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em sementes de milho híbrido, em cinco períodos (horas) após início da germinação.**

Horas após início da germinação	Horas após início da germinação				
	Testemunha	12	24	36	48
0	1,00 <sup>**</sup>	0,07 <sup>ns</sup>	0,43 <sup>**</sup>	0,39 <sup>**</sup>	0,28 <sup>**</sup>
12		1,00 <sup>**</sup>	0,08 <sup>ns</sup>	0,11 <sup>ns</sup>	0,11 <sup>ns</sup>
24			1,00 <sup>**</sup>	0,66 <sup>**</sup>	0,51 <sup>**</sup>
36				1,00 <sup>**</sup>	0,48 <sup>**</sup>
48					1,00 <sup>**</sup>

Valores seguidos por **ns** não foram significativos, \* foram significativos com 95% de probabilidade ( $p \leq 5\%$ ) e \*\* foram significativos com 99% de probabilidade ( $p \leq 1\%$ ).

#### 4.9. Magnésio

Os teores de magnésio (Mg) nas sementes testemunha e nos períodos de 12 h e 36 h após o início da germinação (Tabela 12), permitiram a estratificação ( $p \leq 5\%$ ) dos lotes em dois grupos. Por outro lado, nos tempos 24 h e 48 h, quatro e três grupos, respectivamente, foram identificados. Notoriamente, os lotes considerados de maior vigor pelos testes aplicados (Tabela 1) foram também aqueles que apresentaram os maiores teores de Mg após 48 h (Tabela 13). Correlacionando-se os teores de Mg das sementes com os resultados dos testes de qualidade fisiológica, com exceção da testemunha, foram obtidas correlações positivas; entretanto, apenas os níveis de Mg extraídos após 36 h e 48 h mostraram-se correlacionados aos dados de todos os testes de vigor (Tabela 13). Nesses casos, três grupos de lotes foram identificados e os agrupamentos dos lotes foram coerentes com os agrupamentos quanto aos níveis de vigor, resultantes dos demais testes (Tabela 1).

**Tabela 12. Teores de Magnésio (Mg) detectados em amostras de sementes de milho híbrido em cinco períodos (horas) após início da germinação.\***

LOTES	Magnésio ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ sementes <sup>1</sup> )									
	Testemunha <sup>2</sup>		Horas após o início da germinação							
			12		24		36		48	
01	90,1	A	107,7	A	97,4	D	98,4	B	283,8	B
02	105,8	A	111,5	A	180,8	B	124,4	A	334,0	A
03	110,7	A	113,8	A	205,9	B	124,9	A	327,4	A
04	75,1	B	106,5	A	281,2	A	134,5	A	327,9	A
05	75,6	B	102,4	A	99,8	D	119,0	A	302,8	B
06	55,2	B	116,6	A	94,1	D	116,6	A	292,1	B
07	81,2	B	99,9	A	94,3	D	99,5	B	284,9	B
08	68,0	B	91,1	B	122,1	C	100,9	B	297,5	B
09	60,9	B	100,9	A	119,4	C	109,1	A	291,9	B
10	64,0	B	112,3	A	102,7	D	101,3	B	280,4	B
11	53,2	B	85,0	B	109,6	D	119,9	A	299,9	B
12	49,3	B	105,6	A	103,5	D	114,4	A	288,6	B
13	111,3	A	80,9	B	95,1	D	95,2	B	262,3	C
14	105,7	A	84,2	B	92,7	D	89,7	B	258,7	C
15	103,3	A	109,5	A	91,9	D	91,1	B	260,9	C
16	111,5	A	96,7	A	138,8	C	95,7	B	240,7	C
17	98,2	A	91,4	B	107,5	D	86,4	B	234,8	C
18	103,0	A	83,0	B	97,1	D	86,5	B	221,3	C
19	110,4	A	100,0	A	80,3	D	93,6	B	235,9	C
20	95,8	A	66,3	B	122,7	C	91,8	B	231,4	C
<b>Média</b>	86,4		98,3		121,8		104,6		277,9	
<b>Desvio padrão</b>	29,3		18,4		50,8		18,1		40,9	
<b>CV%</b>	26,3		15,2		14,8		12,3		10,0	

<sup>1</sup> Sementes secas e moidas.

<sup>2</sup> Número de horas após o início do teste de germinação conduzido a 20°C em rolos de papel úmido.

\* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de SCOTT-KNOTT ( $p \leq 5\%$ ).

A correlação negativa identificada entre os níveis de Mg na testemunha e a massa de sementes (Tabela 13) pode ser atribuída ao fato de que, nesse tempo, a avaliação foi feita antes que o processo de germinação tivesse sido iniciado e o Mg armazenado no fitato encontrava-se ainda em uma forma química não passível de extração pelo método utilizado.

Observou-se que, de um modo geral, os lotes que apresentaram os níveis iniciais (testemunha) de Mg mais altos (Tabela 12) foram os que apresentaram resultados inferiores ( $p \leq 0,05$ ) nos testes de qualidade fisiológica (Tabela 1); por sua vez, níveis iniciais inferiores de Mg mostraram-se associados a melhor qualidade fisiológica. Decorridas 48 h de germinação, essa característica inverteu-se: os lotes que apresentaram os menores níveis desse mineral ( $p \leq 0,05$ ) apresentaram os melhores

resultados nos testes de vigor e vice-versa. Essa conclusão foi corroborada pelas correlações identificadas entre esses dados (Tabela 13). Assim, os níveis de Mg extraídos após 36 h e 48 h revelaram mais consistência nas suas relações com os níveis de vigor das amostras de milho testadas.

Os teores iniciais de Mg correlacionaram-se de forma negativa ( $p \leq 0,05$ ) com os teores detectados após 36 h e 48 h de germinação (Tabela 14), ou seja, níveis iniciais de Mg comparativamente inferiores mostraram-se associados a níveis mais altos desse mineral em etapas posteriores do processo de germinação; não se correlacionaram os valores obtidos na testemunha e os obtidos entre 12 h e 24 h.

**Tabela 13. Coeficiente de correlação de Pearson entre os dados de cinco parâmetros de avaliação da qualidade de amostras de sementes de milho híbrido e os teores de Magnésio (Mg,  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) detectados em cinco períodos (horas) após início da germinação.**

Parâmetro de qualidade	Horas após início da germinação				
	Testemunha	12	24	36	48
Massa de 50 sementes (g)	-0,19*	0,15 <sup>ns</sup>	0,12 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,43**
Teste de germinação (%)	-0,34**	0,43**	0,14 <sup>ns</sup>	0,26**	0,52**
Condutividade elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	-0,20*	0,22*	0,13 <sup>ns</sup>	0,27**	0,33**
Emergência em campo (%)	-0,05 <sup>ns</sup>	0,16 <sup>ns</sup>	0,28**	0,31**	0,36**
Teste frio (%)	-0,17 <sup>ns</sup>	0,34**	0,25**	0,34**	0,34**

Valores seguidos por **ns** não foram significativos, \* foram significativos com 95% de probabilidade ( $p \leq 5\%$ ) e \*\* foram significativos com 99% de probabilidade ( $p \leq 1\%$ ).

**Tabela 14. Coeficiente de correlação de Pearson entre os dados resultantes da avaliação dos teores de Magnésio (Mg,  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em sementes de milho híbrido, em cinco períodos (horas) após início da germinação.**

Horas após início da germinação	Horas após início da germinação				
	Testemunha	12	24	36	48
0	1,00**	-0,14 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	-0,23*	-0,23*
12		1,00**	0,14 <sup>ns</sup>	0,23*	0,20*
24			1,00**	0,48**	-0,01 <sup>ns</sup>
36				1,00**	0,22*
48					1,00**

Valores seguidos por **ns** não foram significativos, \* foram significativos com 95% de probabilidade ( $p \leq 5\%$ ) e \*\* foram significativos com 99% de probabilidade ( $p \leq 1\%$ ).

#### 4.10. Potássio

Com base nos teores de potássio (K) nas sementes na testemunha e nos tempos de 24 h, e 48 h de germinação (Tabela 15), os lotes puderam ser agregados em quatro grupos; três grupos foram identificados após 36 h e, após 12 h os lotes não diferiram entre si ( $p \leq 0,05$ ). As distinções dos grupos de lotes possibilitados pelos níveis de K detectados após 36 h e 48 h mostraram-se correlacionadas aos agrupamentos resultantes dos dados dos testes de vigor ( $p \leq 0,01$ ) a que foram submetidos os lotes (Tabela 16). Assim, os níveis de K verificados após esses dois períodos de germinação podem ser considerados como indicadores tão ou mais sensíveis que os testes de vigor utilizados nesse trabalho.

**Tabela 15. Teores de Potássio (K) detectados em amostras de sementes de milho híbrido em cinco períodos (horas) após início da germinação.\***

LOTES	Potássio ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ sementes <sup>1</sup> )									
	Testemunha <sup>2</sup>		Horas após o início da germinação							
			12	24	36	48				
01	258,8	B	246,8	A	285,1	B	283,8	B	229,7	B
02	339,8	A	258,2	A	188,0	C	334,0	A	227,3	B
03	258,2	B	251,5	A	94,5	D	327,4	A	233,8	B
04	219,1	C	254,6	A	93,0	D	327,9	A	199,3	C
05	211,8	C	263,3	A	351,1	A	302,8	B	238,9	B
06	164,9	D	271,9	A	315,9	A	292,1	B	256,5	A
07	215,6	C	266,6	A	306,4	B	284,9	B	265,1	A
08	179,5	D	245,6	A	379,2	A	297,5	B	199,2	C
09	176,1	D	219,8	A	359,5	A	291,9	B	251,9	A
10	164,9	D	246,9	A	330,8	A	280,4	B	229,8	B
11	149,0	D	249,1	A	316,2	A	299,9	B	188,9	C
12	140,8	D	278,0	A	301,5	B	288,6	B	174,9	D
13	224,9	C	261,4	A	261,7	B	262,3	C	167,9	D
14	217,8	C	253,5	A	273,3	B	258,7	C	190,1	C
15	224,9	C	288,8	A	263,7	B	260,9	C	185,4	C
16	281,4	B	245,9	A	352,9	A	235,9	C	167,8	D
17	217,6	C	274,6	A	303,0	B	234,8	C	193,5	C
18	257,4	B	256,9	A	260,3	B	221,3	C	199,6	C
19	277,0	B	281,2	A	219,6	C	235,9	C	173,4	D
20	259,4	B	229,6	A	331,0	A	231,4	C	184,5	C
<b>Média</b>	221,9		257,2		279,3		277,6		207,9	
<b>Desvio padrão</b>	50,4		16,9		79,0		40,9		33,5	
<b>CV%</b>	12,9		7,9		10,3		10,0		7,9	

<sup>1</sup> Sementes secas e moídas.

<sup>2</sup> Número de horas após o início do teste de germinação conduzido a 20°C em rolos de papel úmido.

\* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de SCOTT-KNOTT ( $p \leq 5\%$ ).

**Tabela 16. Coeficiente de correlação de Pearson entre os dados de cinco parâmetros de avaliação da qualidade de amostras de sementes de milho híbrido e os teores de Potássio (K,  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) detectados em cinco períodos (horas) após início da germinação.**

Parâmetro de qualidade	Horas após início da germinação				
	Testemunha	12	24	36	48
Massa de 50 sementes (g)	-0,12 <sup>ns</sup>	-0,12 <sup>ns</sup>	0,14 <sup>ns</sup>	0,14 <sup>ns</sup>	0,45 <sup>**</sup>
Teste de germinação (%)	-0,22 <sup>*</sup>	-0,01 <sup>ns</sup>	-0,02 <sup>ns</sup>	0,35 <sup>**</sup>	0,60 <sup>**</sup>
Condutividade elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	-0,13 <sup>ns</sup>	0,06 <sup>ns</sup>	-0,04 <sup>ns</sup>	0,34 <sup>**</sup>	0,37 <sup>**</sup>
Emergência em campo (%)	0,05 <sup>ns</sup>	-0,15 <sup>ns</sup>	-0,05 <sup>ns</sup>	0,40 <sup>**</sup>	0,47 <sup>**</sup>
Teste frio (%)	-0,09 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	-0,23 <sup>*</sup>	0,45 <sup>**</sup>	0,46 <sup>**</sup>

Valores seguidos por **ns** não foram significativos, **\*** foram significativos com 95% de probabilidade ( $p \leq 5\%$ ) e **\*\*** foram significativos com 99% de probabilidade ( $p \leq 1\%$ ).

Os níveis de K iniciais das sementes, ou seja, antes do início do processo de germinação, não se mostraram relacionados aos níveis encontrados após outras etapas da germinação ( $p \leq 0,05$ ), à exceção do período de 24 h (Tabela 17), quando essa relação foi negativa ( $p \leq 0,01$ ). Nesse último caso, tal resultado pode haver resultado dos valores discrepantes obtidos com os lotes 03 e 04 (Tabela 15), possivelmente por problemas ocorridos durante a realização das análises.

Sabe-se que os níveis de minerais encontrados em sementes varia de acordo com espécie e cultivar (BITYUTSKII et al., 2002; SANGRONIS & MACHADO, 2007), e condições ambientais sob as quais as sementes se desenvolveram (GREINER & EGLI, 2003) e procedimentos analíticos (CENTENO et al., 2001). Assim, os resultados das avaliações dos níveis de minerais aqui relatados devem ser considerados à luz do método de extração utilizado, quer seja o método da água aquecida, cuja escolha foi baseada na sua facilidade de execução e não no seu potencial extrator. Assim, os valores encontrados não necessariamente representam os totais presentes nas amostras, mas unicamente, os totais passíveis de extração pelo método utilizado. A possibilidade de que outros extratores possibilitem a distinção mais eficaz de lotes quanto ao nível de vigor permanece como uma hipótese a ser testada em outros trabalhos. BADAU et al. (2005) avaliaram a disponibilização de minerais durante a germinação de sementes de milho utilizando extrator ácido clorídrico, mas não associaram a disponibilização ao vigor das amostras de sementes.

**Tabela 17. Coeficiente de correlação de Pearson entre os dados resultantes da avaliação dos teores de Potássio (K,  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em sementes de milho híbrido, em cinco períodos (horas) após início da germinação.**

Horas após início da germinação	Horas após início da germinação				
	Testemunha	12	24	36	48
0	1,00**	-0,11 <sup>ns</sup>	-0,30**	-0,00 <sup>ns</sup>	-0,04 <sup>ns</sup>
12		1,00**	-0,21*	-0,05 <sup>ns</sup>	-0,15 <sup>ns</sup>
24			1,00**	-0,27**	0,11 <sup>ns</sup>
36				1,00**	0,40**
48					1,00**

Valores seguidos por **ns** não foram significativos, \* foram significativos com 95% de probabilidade ( $p \leq 5\%$ ) e \*\* foram significativos com 99% de probabilidade ( $p \leq 1\%$ ).

#### 4.11. Considerações gerais

A maior parte dos minerais encontrados nas sementes está associado ao fitato; no caso específico do milho, 75 % a 80 % do P é armazenado na semente na forma de fitato (RABOY et al., 2000). A redução do fitato durante a germinação é acompanhada pelo aumento da concentração de minerais passíveis de extração (BADAU et al., 2005). A degradação do fitato depende da atividade da enzima fitase (GREINER & EGLI, 2003, dentre outros). Assim, as associações verificadas entre níveis de vigor e disponibilidade de nutrientes, podem ser decorrentes do nível de atividade da fitase; em lotes de menor vigor, talvez, a atividade da fitase seja menor ou menos eficaz.

Os testes de avaliação escolhidos são os utilizados com maior frequência em trabalhos de pesquisa e por empresas, assim, suas capacidades para discriminar lotes estão amplamente documentadas (HAMPTON & TEKRONY, 1995). Nesse trabalho, entretanto, a utilização desses testes resultou, de forma consistente, na caracterização de apenas dois grupos de lotes e não diferiu dos resultados do teste de germinação.

Esse fato pode ter resultado de características intrínsecas e específicas dos lotes de sementes utilizados. Os dois grupos caracterizados pelas formas mencionadas referem-se a duas procedências e duas safras (Ipuã, safra 2006/2007; Uberlândia, safra inverno 2007); todas as amostras foram submetidas aos mesmos procedimentos de beneficiamento, de secagem, de embalagem e de armazenamento.

Outro fator que pode ter favorecido a identificação de apenas dois grupos, certamente, foi o método estatístico de comparação de médias utilizado. Na verdade, os

resultados foram também submetidos à avaliação por vários outros métodos, tais como o Tukey, Duncan e Newman-Keuls (dados não mostrados). Esses, entretanto, resultaram em tal número de sobreposições de níveis de significância que inviabilizaram as tentativas de distinguir os lotes quanto a níveis de vigor. O teste mais adequado para tal finalidade foi o de Scott-Knott que, portanto, foi utilizado nesse trabalho.

Existe a possibilidade de que, caso sejam identificados métodos rápidos, baratos e reproduzíveis de avaliação dos teores de certos minerais em sementes, estes poderão complementar os métodos atualmente empregados em sistemas de controle de qualidade de sementes de milho. Dessa forma, poderão contribuir de forma eficaz ao alcance da meta permanente de obtenção de sementes de boa qualidade, tão fundamentais ao desenvolvimento de sistemas agrícolas econômica, ambiental e socialmente sustentáveis.

## 5. CONCLUSÕES

Concluiu-se que os níveis de Pi, P, Ca, Mg e K, extraídos pela metodologia utilizada, em sementes de milho híbrido submetidas a determinados períodos de germinação, permitiram agrupar amostras de lotes de sementes de forma idêntica à permitida por vários testes de avaliação do vigor de sementes. Nesse trabalho isso foi verificado pelas avaliações dos níveis de Pi após 12 h e 48 h, de P após 12 h, 36 h e 48 h, de Ca após 24 h, 36 h e 48 h, de Mg após 36 h e 48 h e de K após 36 h e 48 h de germinação.



## 6. REFERÊNCIAS

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International.**, 16 ed. CUNIFF P. (Ed.). Arlington. AOAC International, 1995. 984p.

AOSA - ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook.** Lincoln: AOSA, 1983. 93p. (Contribution, 32).

BADAU, M. H.; NKAMA, I.; JIDEANI, I. A. Phytic acid content and hydrochloric acid extractability of mineral in pearl millet as affected by germination time and cultivar. **Food Chemistry**, v.92, n.3, p.425-435, 2005.

BARROS, A. S. R.; LIMA DIAS, M. C. L; CICERO, S. M.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de frio. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes.** Londrina: Abrates, 1999. cap. 5, p. 1-15.

BARTNIK, M.; SZAFRANSKA, I. Changes in phytate content and phytase activity during the germination of some cereals. **Journal of Cereal Science**, v.5, p.23-28, 1987.

BEAL, L.; MEHTA, T. Zinc and phytate distribution in peas: influence of heat treatment, germination, pH, substrate, and phosphorus on pea phytate and phytase. **Journal of Food Science**, v.50, p.96-115, 1985.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination.** New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BINO, R. J.; JALINK, H.; OLUOCH, M. O.; GROOT, S. P. C. Seed research for improved technologies. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.55, n.esp., p.19-26, 1998.

BITYUTSKII, N. P.; MAGNITSKY, S. V.; KOROBAYNIKOVA, L. P.; LUKINA, E. I.; SOLOVIOVA, A. N.; PATSEVITCH, V. G.; LAPSHINA, I. N.; MATVEEVA, G. V. Distribution of iron, manganese, and zinc in mature grain and their mobilization during germination and early seedling development in maize. **Journal of Plant Nutrition**, v.25, n.3, p.635-653, 2002.

BORGES, E. E. L.; RENA, A. B. Germinação de semente. In: AGUIAR, I. B.; PINÃ - RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B (Coord). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: Abrates, 1993. p.83-136.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNPV/CLAV, 1992. 365p.

BURRIS, J. S.; NAVRATIL, R. J. Relationship between laboratory cold test methods and field emergency in maize inbreds. **Agronomy Journal**, Madison, v.71, n.6, p.985-988, 1979.

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

CASTRO, M. M.; MARTINS, C. C.; MARTINELLI-SENEME, A.; NAKAGAWA, J. Metodologia para a avaliação do vigor de sementes de tomate híbrido Saldanha. **Informativo Abrates**, Pelotas, v.13, n.3, p.432, 2003.

CENTENO, C.; RIVEROS, A.; BRENES, A.; CANALES, R.; LOZANO, A.; CUADRA, C. Effect of several germination conditions on total P, phytate P, phytase, and acid phosphatase activities and inositol phosphate esters in rye and barley. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.3208-3215, 2001.

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.

CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **Análise instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000. 606p.

CONAB - **COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO**. Acompanhamento da safra brasileira - Safra 2008/2009, – Brasília : Conab, 2009. Disponível em [http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/3graos\\_08.09.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/3graos_08.09.pdf). Acesso em 29/01/2009.

COPELAND, L. O.; MCDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. New York: Chapman & Hall, 1995. 409p.

CORTES, P. M.; SPAETH, S. C. Potassium leakage from artificially aged pea (*Pisum sativum* L.) embryos during imbibition. **Journal of Seed Technology**, v.8, n.1, p.30-42, 1994.

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

CUSTÓDIO, C. **Uso da lixiviação de potássio como teste para avaliar o vigor de sementes de soja**. 1995. 85f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

DAMIÃO FILHO, C. F.; MÔRO, F. V. **Morfologia externa de espermatófitas**. Jaboticabal: Funep, 2001. 101 p.

DELOUCHE, J. C. Harvest and post harvest factors affecting the quality of cotton planting seed and seed quality evaluation. In: BELWIDE COTTON PRODUCTION RESEARCH

CONFERENCE. 1981, New Orleans. **Proceedings**. Memphis: National Cotton Council of America, 1981. p.289-305.

DELOUCHE, J. C. Seed deterioration. **Seed World**, v.92, n.4, p.14-15, 1963.

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.

DIAS, D. C. F. S. **Testes de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 1994. 136f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

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, 1995.

DIAS, M. C. L. L.; BARROS, A. S. R. **Avaliação da qualidade de sementes de milho**. Londrina: IAPAR, 1995. 43 p. (Circular, 88).

DOIJODE, S. D. Solute leakage in relation to loss seed viability in chilli cultivars. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v.31, n.3, p.285-287, 1988.

ESKIN, N. A. M.; WIEBE, S. Changes in phytase activity and phytate during germination of two fababean cultivars. **Journal of Food Science**, v.48, p.270-272, 1983.

FESSEL, S. A.; SILVA, L. J. R.; GALLI, J. A.; SADER, R. Teste de condutividade elétrica para estimar o potencial fisiológico de sementes de brócolis. **Informativo Abrates**, Londrina, v.13, n.3, p.305, 2003.

FIALA, F. Cold test. In: PERRY, D. A., (Ed.) **Handbook of vigour test methods**. Zurich: ISTA, 1981. p. 28-36.

FIGLIOLIA, M. B.; OLIVEIRA, E. C.; PINÃ-RODRIGUES, F. C. M. Análise de sementes In: AGUIAR, I. B.; PINÃ -RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Coord). **Sementes Florestais tropicais**. Brasília: Abrates,1993. p.137-174.

FRANCO, G. **Tabela de composição química de alimentos**. 9.ed, São Paulo: Atheneu, 1992. 364p.

FRIAS, J.; DOBLADO, R.; ANTEZANA, J. R.; VIDAL-VALVERDE, C. Inositol phosphate degradation by the action of phytase enzyme in legume seed. **Food Chemistry**, v.81, p.233-239, 2003.

GREINER, R.; EGLI, I. Determination of the activity of acidic phytate-degrading enzymes in cereal seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.847-850, 2003.

GUIMARÃES, J. R. M.; MALAVASI, M. M.; LOPES, H. M. Definição do protocolo do teste de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de alface (*Lactuca sativa* L. ).**Informativo Abrates**, Londrina, v.3, n.3, p.138, 1993.

HAMPTON, J. G. What is seed quality? **Seed Science and Technology**, v.30, n.1, p.1-10, 2002.

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. (eds.) **Handbook of Vigour Test Methods**. 3 ed. ISTA, Zurich.117p., 1995.

HEPBURN, H. A.; POWELL, A. A.; MATHEWS, S. Problems associated with the routine application of electrical conductivity measurements of individual seeds in the germination

testing of peas and soybeans. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.12, n.2, p.403-413, 1984.

HOPPE, P. E. Correlation between corn germination in laboratory cold tests and stands in the field. **Plant Disease Reporter**, v.40, p.887-889, 1956.

IEA - **INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA**. Banco de dados IEA, São Paulo, 2004. Disponível em <http://www.iea.sp.gov.br>. Acesso em 29/01/2009.

KOLLER, D.; HADAS, A. Water relations in the germination of seeds. In: LANGE, O. L., NOBEL, P. S.; OSMOND, C. B.; ZIEGLER, H. (Ed.). **Encyclopedia of plant physiology**, Berlin: Springer Verlag, v.12B, p.401-431, 1982.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. **Informativo Abrates**, Londrina, v.1, n.2, p.15-50. 1991.

LABOURIAU, L. G. **A germinação de sementes**. 1.ed. Washington: Secretaria Geral da ONU, 1983. 174p.

LEI, X. G.; STAHL, C. H. Biotechnological development of effective phytases for mineral nutrition and environmental protection. **Applied Microbiological Biotechnology**, v.57, p.474-481, 2001.

LEOPOLD, A. C. Temperature effects of soybean imbibition and leakage. **Plant Physiology**, Rockville, v.65, n.4, p.1096-1098, 1980.

LOEFFLER, N. L.; MEIER, J. L.; BURRIS, J. S. Comparison of two cold test procedures for use in maize drying studies. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.13, n.3, p.653-658, 1985.

LOOMIS, E. L.; SMITH, O. The effect of artificial aging on the concentration of Ca, Mg, Mn, K, and Cl in imbibing cabbage seed. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.105, n.5, p.647-650, 1980.

LOTT, J. N. A.; OCKENEN, I.; RABOY, V.; BATTEN, G. D. Phytic acid and phosphorus in crop seeds and fruits: a global estimate. **Seed Science Research**, v.10, p.11-33, 2000.

MARCH, J. G; SIMONET, B. M.; GRASES, F. Determination of phytic acid by gas chromatography-mass spectroscopy: application to biological samples. **Journal of Chromatography B**, v.757, p.247, 2001.

MARCH, J. G; SIMONET, B. M.; GRASES, F. Kinetic-turbidimetric determination of phytic acid by sequential injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v.409, p.9, 2000.

MARCH, J. G; SIMONET, B. M.; GRASES, F.; SALVADOR, A. Indirect determination of phytic acid in urine. **Analytica Chimica Acta**, v. 367, p.63, 1998.

MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, 1999a. p.1-21.

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

MARCOS FILHO, J.; PESCARIN, H. M. C.; KOMATSU, Y. H.; DEMÉTRIO, C. G. B.; FANCELLI, A. L. Testes para avaliação do vigor de sementes de soja e suas relações com emergência de plântulas no campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, n.5, p.605-613, 1984.

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: Editora UFV, 469 p. 2007

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2.ed. London, New York: Academic Press, 1995, 889p.

MARTINELLI, A.; ZANOTTO, M. D. & NAKAGAWA, J. Avaliação da qualidade de sementes redondas de milho, cultivar AL-34, descartadas no beneficiamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 10, Foz do Iguaçu, ago. 1997. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.7, n.1/2, p.169, 1997.

MARTINELLI-SENEME, A.; ZANOTTO, M. D.; NAKAGAWA, J. Efeitos da forma e do tamanho na qualidade de sementes de milho, cultivar AL-341. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 22, n, p.232-238, 2000.

MARTÍNEZ, C., ROS, G., PERIAGO, M. J., LÓPEZ, G., ORTOÑO, J. & RINCÓN, F. El ácido fítico en la alimentación humana. **Food Science and Technology International**, v.2, n.4, p201-209, 1996.

MARTINEZ, E.M.; BADILLO, M.E.V.; RIVERA, A.; NAUARRETE, R.; VILLAGRANA, F.E. Effect of seed shape and size on germination of corn (*Zea mays* L.) stored under adverse conditions. **Seed Science & Technology**, Zürich, v.26,n.2, p.439-448, Apr. 1998.

MARTINS, C. O. A.; PADILHA, L.; FERREIRA, A. C. B.; MANTOVANI-ALVARENGA, M.; DIAS, D. C. F. S. Influência da classificação por tamanho na germinação e no vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE



SEMENTES, 10, Foz do Iguaçu, ago. 1997. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.7, n.1/2, p.169, 1997.

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

MCDONALD JÚNIOR., M. B.; WILSON, D. O. ASA-610 Hability to detect changes in soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, Lincoln, v.5, n.1, p.56-66, 1980.

MEDEIROS, A. C. S. **Aspectos de dormência em sementes de espécies arbóreas**. Embrapa, 12p. 2001. (Circular Técnica).

MEDINA, P. F., MARCOS FILHO, J. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, v.47, n.1, p.47-70, 1990.

MENEZES, D.; GOMES, A.C.S. & GUIMARÃES, R.M. Influência do tamanho da semente de milho (*Zea mays* L.) na sua qualidade fisiológica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 7, Campo Grande, 1991. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.1, n.4, p.36, 1991.

MEURER, E. J.; MA WANG, G. & WANG, S. R. Função dos nutrientes e sintomas de deficiências. In: MIYASAKA, S. & MEDINA, J. C.(Ed.). **A soja no Brasil**. Campinas, ITAL, 1981. p.156-167.

MIRANDA, L. N.; MIRANDA, J. C. C. Efeito residual do calcário na produção de milho e soja em solo glei pouco húmico. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.24, p.209-215, 2000.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; BLOCK, M. F. M. Determination of Ca, Mg, K, Mn, Cu, Zn, Fe and P in coffee, soybean, corn, sunflower and pasture grass leaf tissues by a HCl extraction method. **Communications in Soil Science and Plant**, v.15, n.2, p.141, 1984.

MOLINA, J. C.; IRIGON, D. L.; ZONTA, E. P. Comparação entre metodologias do teste de frio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.9, n.3, p.77-85, 1987.

MURPHY, J. B.; NOLAND, T. L. Temperature effects on seed imbibition and leakage mediated by viscosity and membranes. **Plant Physiology**, Stanford, v.69, n.2, p.428-431, 1982.

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, p.49-86. 1994.

NARRAS, E. **Ciclo do fósforo: transformações microbiana**. Jaboticabal, Funep, 1991. 67p.

O'DELL, B. L.; BOLAND, A. R. K. Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oilseed meals. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.24, n.4, p.804, 1976.

O'DELL, B. L.; BOLAND, A. R. K. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.20, p.718-721, 1972.

OLIVEIRA, E. Preparo de amostras: evolução e perspectivas futuras. In: ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, 11., **Conferência...**, Campinas, 2001.VIII.

PAIVA AGUERO, J. A.; VIEIRA, R. D.; BITTENCOURT, S. R. M. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de cultivares de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.19, p.225-260, 1997.

PETERSON, J.M.; PERDOMO, J.A.; BURRIS, J.S. Influence of kernell position mechanical damage and controlled deterioration on estimats of hybrid maize seed quality. **Seed Science & Technology**, Zurich. v.23;n.3, p.647-657,July 1995.

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

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

POWELL, A. A. Seed improvement by selection and invigoration. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.55, p.126-133, 1998.

RABOY, V.; GERBASI, P.F.; YOUNG, K.A.; STONEBERG, S.D.; PICKETT, S.G.; BAUMAN, A.T.; MURTHY, P.P.N.; SHERIDAN, W.; ERTL, D. Origin and seed phenotype of maize low phytic acid 1-1 and low phytic acid 2-1. **Plant Physiology**, v.124, n.1, p.355-368, 2000.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F. & EICHHORN, S. **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, Koogan, 2001.

REIS, B. F.; BERGAMIN FILHO, H. Evolução dos injetores empregados em sistemas de análise por injeção em fluxo. **Química Nova**, v.16, n.6, p.570, 1993.

REIS, B. F.; GINÉ, M. F.; KRONGA, E. A. M. A análise química por injeção em fluxo contínuo. **Química Nova**, v.12, n.1, p.82, 1989.

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

SAEG; **Sistema para Análises Estatísticas**, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SANGRONIS, E.; MACHADO, C.J. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. **Food Science and Technology**, v.40, n.1, p.116-120, 2007.

SATTELMACHER, B.; HEINECKE, I.; MÜHLING, K. H. Influence of minerals on cytoplasmic streaming in root hairs of intact wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). **Plant and Soil**, v.155/156, p.107-110, 1993.

SCOTTI, C.A. & GODOY, O.P. Avaliação do vigor de sementes de milho através do teste de envelhecimento precoce. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.13, n.3, p.93-99, 1978.

SILVA, F. V.; NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B.; ZAGATTO, E. A. G. A polyvalent flow injection system for multielemental spectrophotometric analysis of plant materials. **Analytica Chimica Acta**, v.370, p.39, 1998.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A.; **Princípios de análise instrumental**, 5.ed. Porto Alegre: Bookman. 2002.

STROTHER, S. Homeostasis in germinating seeds. **Annals of Botany**, v.45, p.217-218, 1980.

SUELTER, C. H. Enzymes activated by monovalent cations. **Science**, v.168, p.789-795, 1970.

TABEKHIA, M. M. & LUH, B. S. Effect of germination, cooking, and canning on phosphorus and phytate retention in dry beans. **Journal of Food Science**, 45:406-408, 1980.

TALAMOND, P.; GALLON, G.; TRECHE, S. Rapid and sensitive liquid chromatographic method using a conductivity detector for the determination of phytic acid in food. **Journal of Chromatographic A**. v.805, p.143, 1998.

TAYLOR, A. G.; LEE, S. S.; BERESNIEWICZ, M. M.; PAINE, D. H. Aminoacid leakage from aged vegetable seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.23, p.113-122, 1995.

TEKRONY, D. M. & EGLI, D. B. Relationship of seed vigor to crop yield: a review. **Crop Science**, v.31, p.816-822. 1991.

TEKRONY, D. M. Precision: an essential component in seed vigor testing. In: **INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION**, Angers, 26., 2001. Mimeografado.

TEMPLETON, D. M.; ARIESE, F.; CORNELIS, R. DANIELSSON, L.; MUNTAU, H.; Van LEEUWEN, H. P.; LOBINSKI, R. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements: definitions, structural aspects, and methodological approaches. **Pure and Applied Chemistry**. v.72, n.8, p.1453, 2000.

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

VIDIGAL, D. S.; LIMA, J. S.; BHERING, M. C.; DIAS, D. C. F. S. Teste de condutividade elétrica para semente de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, p.168-174, 2008.

VIEIRA, E. C. **Desenvolvimento de procedimentos para especificação de fósforo em grãos de cereais e derivados empregando sistemas de análise em fluxo**. 2003. 83f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica)-Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

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

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M.; SADER, R. Testes de vigor e suas possibilidades de uso. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.31-47.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, 1999. p.1-21.

VOGEL, A. I. **Análise inorgânica quantitativa**. 4.ed. Rio de Janeiro, Guanabara, 1981.

WILSON JÚNIOR, D. O.; TRAWATHA, E. S. Physiological maturity and vigor in production of "Florida Staysweet" shrunken-2 sweet corn seed. **Crop Science**, Madison, v.31, n.6, p.1640-1647, 1991.

WOLF, M.; BUZAN, C.; Mc.MASTERS, M.; RIST, C. Structure of the mature corn kernel. I. Gross anatomy and structural relationships. **Cereal Chemistry**, St.Paul., v.29,n.5, p.321-323, Sept. 1952.