

# TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE CAFÉ (Coffea arabica L.).

PAULA DE SOUZA CABRAL COSTA

JLA

#### PAULA DE SOUZA CABRAL COSTA

# TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE CAFÉ (Coffea arabica L.).

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de mestre.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Laene Moreira de Carvalho UFLA (Orientadora)

> LAVRAS-MG 2003

# Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da UFLA

## Costa, Paula de Souza Cabral

Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café (*Coffea arabica* L.) / Paula de Souza Cabral Costa. -- Lavras : UFLA, 2003.

81 p.: il.

Orientador: Maria Laene Moreira de Carvalho. Dissertação (Mestrado) – UFLA. Bibliografia.

1. Café. 2. Semente. 3. Qualidade fisiológica. 4. Condutividade elétrica. 5. Embebição. 5. Particão. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.7321

#### PAULA DE SOUZA CABRAL COSTA

## TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE CAFÉ (Coffea arabica L.).

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de mestre.

#### APROVADA EM

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Laene Moreira de Carvalho

**UFLA** 

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira

**UFLA** 

Dr.ª Sttela Dellyzette V. Franco da Rosa

Embrapa/Café

Prof. Dr. Maria Laene Moreira de Carvalho UFLA (Orientadora)

> LAVRAS MINAS GERAIS – BRASIL

A você papai, exemplo exímio de profissional, de ser humano, e de pai. Obrigada por seus ensinamentos, pela presença contagiante de sua personalidade em minha vida, pelo amor infinito e insubstituível. Seu amor por mim e os laços espirituais que nos unem até hoje fizeram de você, junto a mim, ilustre autor dessa obra.

À memória de José Hélio Cabral Costa, meu querido e inesquecível pai, DEDICO.

"Valem mais as lágrimas da derrota do que a vergonha de não ter lutado"

A você mamãe (Guta), pela paciência e compreensão, agradeço eternamente e espero ser capaz de retribuir. A você Helinho, meu único irmão, saiba que essa é uma grande vitória que conquistei, mas o que quero pra você ainda é muito maior, muito melhor e muito mais lindo do que tudo aquilo que sonhei pra mim. Amo vocês... infinitamente!!

OFEREÇO.

#### AGRADECIMENTOS

À força e proteção de Deus, às oportunidades e inesquecíveis experiências adquiridas durante a execução desse trabalho. Pela saúde, por minha força de vontade e inteligência; todas são dádivas divinas.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), por manter abertas para mim todas as portas que direcionavam à prosperidade profissional.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

À Professora Maria Laene Moreira de Carvalho. Não existem palavras que expressem suficientemente seus gestos de compreensão, paciência, dedicação e acima de tudo, de uma grande amizade. Sua orientação ultrapassou, e muito, os limites que separam seu lado profissional e humano. Meu eterno reconhecimento e gratidão.

Aos professores Renato, João Almir, Renato Delmondez, Édila, Maria das Graças e ao pesquisador Antônio R. Vieira: obrigada pelos ensinamentos, exemplos, sugestões e críticas; foram certamente indispensáveis para a elaboração e execução do meu trabalho e para meu crescimento pessoal e profissional;

Ao professor Júlio Sousa Bueno Filho e alunos da disciplina "Estudos especiais em estatística e experimentação agronômica" pela parceria e empenho na realização das análises estatísticas; Às muito queridas Dalva e D. Elza, obrigada pela agradável e valiosíssima convivência, e por todo o carinho que vocês não pouparam em relação a mim.

Aos grandes amigos e profissionais Lisandro, José Roberto, e Andréa. A convivência com vocês só me trouxe alegrias, vontade de seguir em frente, pois a verdadeira amizade nos permite sentir assim.

A Stella, Brandão, Kalinka, Dinara, Ana, Sandro, Maria de Lourdes, Magnólia, Leandro, Patrícia, Solange, Elisa e demais colegas da pósgraduação pelo exemplo de vocês, pelo apoio e incentivo constantes;

Ao bolsista Túlio Lourenço Pupim pela amizade e grande ajuda, e demais bolsistas e estagiários do Setor de Sementes, que por tantas vezes me estenderam a mão, e a todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para que eu conseguisse chegar até aqui, seja com um sorriso, um incentivo ou simplesmente com a força positiva do pensamento em mim. Agradeço a todos vocês, com muito carinho, e sem distinção!!

#### RESUMO

COSTA, Paula de Souza Cabral. Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café (Coffea arabica L.). Lavras: UFLA, 2003. 81p. (Dissertação de Mestrado em Fitotecnia).

O teste de condutividade elétrica é usado para medir os exsudatos das sementes, que indicam a integridade do sistema de membranas. O teste é rápido, barato, e de simples operação. Entretanto, a metodologia necessita ser testada para cada espécie individualmente para obter uma melhor precisão e exatidão dos resultados. Esse trabalho foi conduzido para verificar a qualidade fisiológica de sementes de café, com e sem pergaminho, pelo teste de condutividade elétrica, usando os métodos de massa e individual. O segundo objetivo desse trabalho foi determinar o tempo de embebição e o ponto de partição no referido teste. Dez lotes de sementes de C. arabica, cultivar Acaiá foram usados nesse estudo. A curva de embebição para cada lote foi determinada e as sementes foram submetidas aos testes de germinação e tetrazólio. Para a avaliação do ponto de partição as sementes foram embebidas por 96 horas e submetidas ao teste de germinação, correlacionando os valores de condutividade observados com a qualidade fisiológica. O período de embebição de 96h para o método individual e sementes sem pergaminho foram as condições mais apropriadas para o desenvolvimento do teste de condutividade. O ponto de partição é 120.5uS/cm. considerando 70% de germinação.

\* Comitê Orientador: Prof. Dr. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA (Orientadora), Prof. Dr Renato Mendes Guimarães – UFLA.

#### **ABSTRACT**

COSTA, Paula de Souza Cabral. Electrical conductivity test for evaluation of the physiological quality of coffee seeds (Coffea arabica L.). Lavras: UFLA, 2003. 81p. (Máster Science in Agriculture Science).

The conductivity test is used to measure the leaches from the seeds, which indicate the membrane system integrity. The test is rapid, inexpensive and it is of simple operation. However, the methodology needs to be tested for each individual species in order to reach a better precision and accuracy. This work was conducted to verify the physiological quality of the coffee seeds, with and without the parchment, through the electrical conductivity test using the individual and the bulk methods. The second goal of this word was to determine the imbibition time and the partition point in that test. Ten seed lots of C. arabica, cultivars Acaiá were used in this study. The imbibition curve for each lot was determined and the seeds were submited to the germination and tetrazolium tests. For the evaluation of the partition point seeds were imbibed for 96 hours and submitted to the germination test correlating the conductivity values observed with the phisiological quality. The individual and bulk methods proved to be efficient in distinguishing coffee seed lots from different levels of physiological quality. The imbibition's period of 96h for individual method and seeds without parchment were the most appropriate conditions for the development of the conductivity test. The partition point is 120,5µS/cm, considering 70% of germination.

<sup>\*</sup> Guidance Committee: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA (Major Professor), Prof. Dr Renato Mendes Guimarães – UFLA.

# SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1. O processo de deterioração da semente	5
2.2. O sistema de membranas e a qualidade fisiológica	9
2.3. Testes de Vigor	15
2.4. Condutividade elétrica	18
2.4.1. Condutividade elétrica de massa	19
2.4.2. Condutividade elétrica individual	22
2.4.3. Fatores que afetam os resultados da condutividade elétrica	25
2.4.4 Interpretação dos resultados	32
3. MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1. Caracterização dos lotes	35
3.1.1. Sementes utilizadas	35
3.1.2. Determinação da umidade	37
3.1.3. Construção da curva de embebição	37
3.1.4. Teste de germinação (TG)	38
3 1 5 Teste de tetrazólio (TZ)	38

3.2. Teste de condutividade elétrica de massa	39
3.3. Teste de condutividade elétrica individual	39
3.4. Determinação do ponto de partição	40
3.4.1. Teste de Condutividade elétrica individual	40
3.4.2. Teste de germinação (TG)	40
3.5. Delineamento experimental	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1. Caracterização dos lotes	43
4.2. Condutividade elétrica	47
4.2.1. Condutividade elétrica de massa	47
4.2.2. Condutividade elétrica individual	53
4.3. Determinação do ponto de partição	53
5. CONCLUSÕES	70
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 7	<b>'</b> 1

# 1 INTRODUÇÃO

O café é uma das culturas de maior importância econômica e social para o Brasil. Nos últimos anos, a redução da cota da exportação do produto teve como consequência a introdução de tecnologias que levassem à obtenção de maior qualidade, atendendo assim à demanda de consumidores cada vez mais exigentes.

Dentre os setores da cafeicultura que demandam maior atenção em termos de qualidade, destaca-se o setor sementeiro, pois da semente depende a qualidade das mudas e o estabelecimento de lavouras com potencial produtivo. A qualidade de sementes depende, entre outros fatores, das condições de produção; e a determinação da qualidade fisiológica depende de métodos de avaliação que permitam detectar com eficiência e rapidez as variações entre lotes (Krzyzanowski et al., 1999).

O método tradicionalmente usado para avaliar a qualidade fisiológica de sementes baseia-se na realização do teste de germinação, que para sementes de café demanda no mínimo 30 dias. O desenvolvimento de testes mais rápidos para avaliação da viabilidade das sementes pode agilizar o processo produtivo e auxiliar na decisão dos destinos dos lotes de sementes de café.

Um dos métodos mais rápidos e eficientes utilizado para a avaliação da qualidade de sementes é o teste de condutividade elétrica (Andrade et al., 1995). Com esse teste pode-se estimar a qualidade do lote, analisando-se cada semente individualmente – teste de condutividade individual – ou analisando-se todas as sementes de uma amostra por vez, e fornecer como resultado uma média de condutividade da solução na qual estão os lixiviados das sementes que compõem a amostra – teste de condutividade em massa ("Bulk Conductivity"). O princípio básico dessa técnica é a medição da condutividade elétrica dos eletrólitos liberados pela semente na água de embebição. Essa condutividade é diretamente

proporcional ao grau de desorganização do sistema de membranas e de sua permeabilidade. (Vieira & Carvalho, 1994; ISTA, 1995; Krzyzanowski et al., 1999).

Apesar de o teste de condutividade elétrica vir se destacando como um dos testes rápidos e promissores na avaliação da qualidade de sementes de diversas espécies, não existem relatos de sua utilização na avaliação da qualidade de sementes de cafeeiro.

Com este trabalho objetivou-se verificar a possibilidade de avaliação da qualidade fisiológica das sementes de diferentes lotes de café pelo teste de condutividade elétrica individual e de massa, bem como determinar o tempo para a embebição e o ponto de partição para sementes de café.

# 2 REFERENCIAL TEÓRICO

O café é o segundo produto gerador de divisas do mundo, perdendo apenas para o petróleo; e o Brasil é o segundo maior consumidor mundial de café, maior produtor e exportador, e é líder em pesquisas cafeeiras (Anuário Estatístico do Café, 2000-2001; Embrapa, 2003). Nos últimos anos, o café arábico (*Coffea arabica L.*), amplamente cultivado no Paraná, sul de Minas e São Paulo, ganhou novas áreas no Triângulo Mineiro e oeste baiano; o café robusta (*Coffea canephora L.*) expandiu do Espírito Santo ao sul da Bahia e ao Estado de Rondônia, disponibilizando um total de 3 milhões de empregos diretos e mais 7 milhões de empregos indiretos (Zambolim, 2000; Guimarães et al., 2002).

A larga expansão da cultura cafeeira deu-se como conseqüência da necessidade de melhoria na qualidade do produto final, pois os competidores do mercado internacional começaram a surgir como uma ameaça ao mercado nacional, já que produziam com um padrão de tecnologia que até então inexistia no Brasil. A participação do Brasil nas exportações mundiais reduziu de 35% para 18%, de 1964 a 1998 (Guimarães et al., 2002). Com o mercado de exportação ameaçado o produtor brasileiro investiu em tecnologia para aumentar a produtividade, reduzir custos sem comprometer a qualidade, identificar novos mercados e atender às necessidades e anseios cada vez mais exigentes da sociedade.

Os frutos da espécie *Coffea arabica* produzem sementes quando estão fisiologicamente maduros. A descrição morfológica dos frutos confunde-se muitas vezes com a da semente, que é constituída do embrião, endosperma e tegumento, ou seja, o fruto com exceção do epicarpo (casca) e do mesocarpo (mucilagem).

O tegumento da semente é uma fina camada (película prateada), que reveste o endosperma e o embrião. O endosperma garante as reservas energéticas durante os processos de germinação e emergência e é composto basicamente de carboidratos. O embrião é a parte viva da semente, composto de radícula, hipocótilo e cotilédones. O endocarpo, usualmente chamado pergaminho, é formado por hemiceluloses com função de reserva, fibras e por ligninas, e protege as sementes contra microorganismos e danos físicos. Quando as sementes são semeadas em substratos ricos em microorganismos, o pergaminho é rapidamente decomposto, não havendo prejuízos durante o processo de germinação (Carvalho & Nakagawa, 2000; Guimarães, 2002).

Apesar de ser de extrema importância para a proteção da semente contra microorganismos e danos físicos, o pergaminho representa um entrave aos processos de germinação da semente, emergência e crescimento de plântulas. Inúmeras substâncias podem estar presentes no pergaminho e influenciar a germinação de sementes (Vieira, 1991; Carvalho, 1997). O ácido clorogênico, uma substância de natureza fenólica, que pode inibir o crescimento e desenvolvimento das plantas, o alongamento de raízes, a germinação e o brotamento de gemas. Essas substâncias tornam-se ativas na presença de água (Krogmeier e Bremmer, 1989), o que foi comprovado com vários trabalhos nos quais houve maior eficiência na emergência, no crescimento de plântulas e no desenvolvimento do sistema radicular com a retirada do pergaminho das sementes de café (Guimarães, 1995; Carvalho, 1997).

O fruto contém duas lojas com um óvulo cada uma que, se fecundados, produzirão uma semente. Cada fruto de cafeeiro produz então duas sementes.

# 2.1 - O Processo de Deterioração da Semente

O processo de deterioração de uma semente envolve todas e quaisquer modificações degenerativas irreversíveis que surgem após a semente ter atingido seu nível máximo de qualidade (Abdul e Anderson, 1972). De um modo mais sintetizado, Coolbear (1995) definiu o processo de deterioração como sendo a perda da qualidade da semente ao longo do tempo, ou simplesmente, o processo de envelhecimento da semente.

Segundo Delouche (1975) e Basra (1995), a deterioração é um processo inevitável e irreversível, mas que pode ser controlado. Na Maturidade Fisiológica, quando a semente atinge seu nível máximo de qualidade, a deterioração está em seu nível mínimo. A partir da maturidade, o nível de qualidade da semente começa a decrescer, em consequência de diversos fatores, entre os quais destaca-se o armazenamento sob condições inadequadas.

Os fungos de armazenamento podem causar deterioração quase total às sementes, pois cascas e tegumentos são destruídos mais tardiamente. Consequentemente, quando a deterioração dos tecidos se manifesta externamente, o processo já se encontra num estádio avançado (Mantovaneli, 2001). Portanto, pela utilização de técnicas adequadas na colheita e pós-colheita (secagem, beneficiamento, manuseio e armazenamento), o processo de deterioração ocorreria de maneira mais lenta ao longo do tempo, aumentando a armazenabilidade das sementes. A deterioração inclui modificações de cunho físico, fisiológico e bioquímico. A primeira modificação degenerativa ocorre nas membranas celulares, com consequente perda da permeabilidade seletiva (Poppinigis, 1977). Essa modificação desencadeia várias outras, por causa de alteração nas propriedades do conjunto de membranas celulares. O aumento da permeabilidade da membrana plasmática promove um aumento da lixiviação de

açúcares, aminoácidos e sais orgânicos lixiviados em sementes embebidas; há redução na capacidade fosforilativa das mitocôndrias, que também têm as propriedades de suas membranas alteradas. As membranas do retículo endoplasmático e do complexo de Golgi, quando alteradas, podem ocasionar redução na síntese e transporte de proteínas e carboidratos. Os tonoplastos, que são as membranas que envolvem os vacúolos, quando perdem a permeabilidade seletiva, causam descompartimentalização enzimática (Abdul-Baki e Baker, 1973; Villier, 1973; Vieira et al., 1991).

As membranas celulares são seletivas e organizadoras de estruturas subcelulares. Várias reações químicas que ocorrem no meio intracelular seriam impossíveis de ocorrer no meio extracelular, em razão da dispersão dos reagentes num meio incompatível. Outras reações fazem parte do exercício de funções celulares altamente especializadas, e que, portanto, necessitam da compartimentalização das organelas em que ocorrem, como as reações oxidativas com a utilização de O<sub>2</sub> na mitocôndria, replicação de DNA e síntese de RNA-m no núcleo de células eucariotas e síntese e transporte de proteínas no retículo endoplasmático e complexo de Golgi (Vieira et al, 1991).

A perda da permeabilidade seletiva das membranas celulares vem seguida de várias outras transformações degenerativas. A germinação, crescimento e desenvolvimento da plântula tornam-se mais lentos, gerando também uma maior desuniformidade entre as plantas resultantes. O percentual de plântulas anormais aumenta cada vez mais, até a perda total da capacidade de germinação do lote e morte das sementes. Em sementes de café (Amorim et al., 1977) e de soja (Barros, 1988) a perda da permeabilidade seletiva pode ser causada por temperaturas extremamente altas ou baixas, variações na umidade do ar e por injúrias.

As membranas celulares são formadas por lipídios, dispostos em uma camada dupla, e proteínas a ela associadas. Os lipídios que formam as

membranas têm natureza anfipática, como os fosfolipídios, o colesterol e alguns glicolipídios. Quando esses lipídios entram em contato com a água, ocorre a formação da membrana. A parte hidrofílica dos lipídios interage com a água, que é um dipolo, e a parte hidrofóbica interage entre si, formando a bicamada lipídica. (Vieira et al, 1991; Dey & Harbone, 1997).

As proteínas associadas à membrana têm estrutura primária e aminoácidos hidrofóbicos predominando. Movimentam-se lateralmente pela membrana, numa velocidade que varia com a fluidez e com a viscosidade da membrana. A fluidez está relacionada com a concentração de ácidos graxos polinsaturados nos fosfolipídios, e a insaturação desses ácidos pode promover variação na distância entre as moléculas (Vieira et al., 1991; Dey & Harbone, 1997). Membranas contendo fosfolipídios formados por ácidos graxos saturados são menos fluidas, pois esses se arranjam de forma mais compacta (Vieira et al., 1991).

As proteínas estão presentes na membrana numa proporção direta à atividade metabólica e de transporte dessa membrana, seja ela de uma célula ou de uma estrutura subcelular. Além de atuarem como transportadoras de íons e nutrientes para a célula, as proteínas da membrana ligam-se a hormônios, imunoglobulinas e lipoproteínas, atuam em processos de adesão e reconhecimento celular, e são indispensáveis à manutenção da estrutura da membrana para o movimento celular e a fagocitose (Dey & Harbone, 1997).

As membranas das estruturas subcelulares apresentam-se associadas a muitas enzimas (Poppinigis, 1977). A enzima polifenoloxidase é uma delas e torna-se ativa quando liberada das membranas (Prete, 1992; Barrios Barrios, 2001). A atividade dessa enzima varia com a espécie, variedade e maturidade da semente (Prete, 1992). Em café, segundo Barrios Barrios (2001), a polifenoloxidase é encontrada em diferentes partes do fruto.

Um dano à estrutura da membrana libera a polifenoloxidase, que age oxidando o ácido clorogênico a quinonas (Prete, 1992). Os compostos fenólicos, com destaque para o ácido clorogênico e cafeico, exercem uma ação protetora antioxidante dos aldeídos (Amorim e Silva, 1968). Em grãos de café, Prete (1992) observou que a o-quinona, um dos produtos da oxidação do ácido clorogênico, confere pigmentos marrons ou pretos insolúveis, portanto, a cor verde dos grãos de café constitui um indicativo de que os processos oxidativos endógenos à semente estão ocorrendo a baixas taxas ou não estão ocorrendo. Sem a proteção antioxidante, os lipídios das membranas sofrem oxidação, liberando radicais livres, entre os quais se destacam as hidroxilas (OH') e os superóxidos (O2'). A formação de radicais livres também pode ser conseqüência da falta ou excesso de água, o que desencadeia uma série de reações que geram esses radicais (Desai et al., 1997; Dey & Harbone, 1997).

A presença de radicais livres em sementes armazenadas pode acarretar desnaturação de proteínas e inativação progressiva de enzimas sintetizadoras, cuja síntese também é prejudicada. As moléculas de DNA e RNA podem sofrer interrupção na sua formação e dificuldade na manutenção da sua integridade (Basra, 1995; Desai et al., 1997). Basra (1995) afirma ainda que moléculas de DNA são desnaturadas, os processos de tradução e transcrição protéicas são cessados, e alguns aminoácidos são oxidados. Os danos no DNA ocorrem por causa das suas interações com o radical livre hidroxila (OH) na timina, ou com interações com produtos secundários da peroxidação lipídica. Os danos das moléculas de DNA e RNA, causados pela deterioração da membrana lipídica da semente, comprovam a afirmação de Basra (1995), que correlaciona a deterioração dessas membranas à redução da atividade mitocondrial.

A deterioração das membranas de macromoléculas pode causar um crescimento anormal ou lento de plântulas, ou ainda cessar o crescimento, dependendo do tipo (Desai et al., 1997) e localização do dano (Dias, 1994). O

crescimento, quando considerado anormal, pode ser comprovado (Martins, 1993) pelo desenvolvimento de sinais ou anormalidades específicas na plântula, relacionado a uma ou mais causas específicas de deterioração de sementes. Em sementes de soja, Ferguson (1988) observou que a deterioração é mais rápida no eixo embrionário do que nos cotilédones.

A razão principal dos danos à membrana durante a deterioração (Abdul e Anderson, 1972; Coolbear, 1995) ou envelhecimento (Coolbear, 1995) é o ataque dos radicais livres, que causam a peroxidação dos lipídios da membrana (Poppinigis, 1977).

# 2.2 - O Sistema de Membranas e a Qualidade Fisiológica

A Maturidade Fisiológica, segundo Delouche (1975), é a fase na qual a deterioração da semente é mínima. Nesse ponto a organização do sistema de membranas é máxima (Penariol, 1997), coincidindo com os valores máximos de vigor, potencial de germinação e de peso de matéria seca. Consequentemente, o desempenho das funções fisiológicas atribuídas às sementes é máximo.

A umidade da semente decresce progressivamente com o seu desenvolvimento. Na Maturidade Fisiológica, a umidade da semente encontra-se em equilíbrio com o meio ambiente. Na fertilização, a umidade no óvulo gira em torno de 80%.

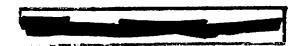
À medida que a semente seca na maturação, as membranas sofrem alterações na sua integridade, num processo de desorganização estrutural temporário (Simon & Raja Harun, 1972), estando tanto mais desorganizadas quanto menor for seu o teor de água (Bewley, 1986). Durante a embebição elas se reestruturam, e recuperam sua função de permeabilidade seletiva. Assim, a perda da viabilidade de sementes armazenadas secas é causada pela inabilidade dos sistemas de reparo dos tecidos, em função do baixo teor de água disponível.

Consequentemente, os danos se acumulam e somente poderão ser reparados quando as sementes forem embebidas para a germinação.

A dessecação é a redução no teor de água da semente, ocorrida com a paralisação do crescimento e desenvolvimento das sementes no final da maturação (Carvalho & Nakagawa, 2000), como resultado da desconexão entre semente e planta-mãe. É uma adaptação estratégica para tornar a semente ortodoxa apta à sobrevivência durante o armazenamento. Brandão Júnior (2000) verificou aumento no nível de tolerância à dessecação com a evolução do desenvolvimento em sementes de cafeeiro, e que sementes colhidas de frutos no estádio verde apresentam maior sensibilidade à dessecação.

Segundo Desai et al., (1997), a uma umidade maior que 30%, sementes não dormentes podem germinar, e de 18 a 30%, uma rápida deterioração por microorganismos pode ocorrer, principalmente sob condições aeróbicas. Sementes recalcitrantes não podem sofrer secagem durante o seu desenvolvimento até a germinação. Já que não podem resistir à dessecação, são inaptas ao armazenamento por longos períodos de tempo (Villiers, 1973). Sementes de cafeeiro foram classificadas como semi-recalcitrantes; são relativamente tolerantes à dessecação, mas não resistem a ela em níveis tão baixos quanto as sementes ortodoxas. Sementes de origem tropical, como o café, podem ser também sensíveis ao frio, mesmo estando desidratadas (Ellis et al., 1990; Abdelnour et al., 1992; Hong e Ellis, 1995). As conseqüências do comportamento recalcitrante vêm sendo pesquisadas e têm sido relacionadas a fatores como danos nos sistemas de membranas (Bilia, 1997; Brandão Júnior, 2000).

Carvalho & Nakagawa (2000) afirmam que sementes imaturas passam a adquirir tolerância à dessecação após um certo período de tempo, e essa aquisição envolve um rearranjo metabólico e estrutural, que possibilita às células sobreviverem às perdas de grande quantidade de água com o mínimo de danos.



Rosa et al. (2000) verificaram a existência de danos no sistema de membranas de sementes de milho associados à secagem artificial. Em sementes de café, Guimarães (2000) observou que os mecanismos de proteção das membranas à dessecação são desenvolvidos entre os estádios verde e verde-cana, independente do método de secagem a que foram submetidas as sementes.

O conhecimento da capacidade que uma espécie tem em tolerar a perda de água é de grande importância nos processos de secagem e armazenamento. A secagem deve ser de modo que não promova uma retirada brusca de água do interior da semente, provocando uma desorganização e descompartimentalização cada vez maiores de todo o sistema de membranas da semente. Essa desorganização continua durante o armazenamento, mas será retardada se as condições forem ideais. Segundo Delouche (1975), a temperatura e o teor de umidade são os fatores mais importantes no armazenamento, ambos em função da umidade relativa do ar.

Dependendo da secagem, do armazenamento, e da tolerância à dessecação, as sementes irão embeber água em quantidades e velocidades distintas durante a germinação (Poppinigis, 1977). A primeira fase da germinação é a embebição de água (Bewley & Black, 1994). A embebição é um tipo de difusão que ocorre quando as sementes absorvem água. Todas as sementes, exceto aquelas com tegumento impermeável (sementes duras), embebem-se ou reidratam-se quando expostas à água. Há aumento do volume da semente e liberação de calor. A absorção de água desencadeia uma série de processos físicos, fisiológicos e bioquímicos no interior da semente viva que, na ausência de outro fator limitante, resultam na emergência da plântula (Poppinigis, 1977).

A velocidade de absorção de água varia com a espécie, permeabilidade do tegumento, disponibilidade de água, pressão hidrostática, área de contato água/semente, forças intermoleculares, composição química, condição



fisiológica (Poppinigis, 1977) e com o genótipo (Sá, 1999). Dentro de uma mesma espécie, ocorre diferença de volume do embrião e do eixo, permeabilidade e composição química. O tegumento, em certas espécies, pode apresentar-se totalmente impermeável à água, ou sofrer modificações devidas à impregnação de membranas celulares como ligninas (Ragus, 1987; Panobianco, 1997), gorduras, suberina ou tanino (Ragus, 1987). Com um aumento na temperatura, ocorre aumento na velocidade de embebição, nas atividades metabólicas e na utilização da água no interior da semente, podendo reduzir sua viabilidade (Desai et al., 1997). Quanto à composição química, sementes ricas em proteínas absorvem água mais rapidamente, por causa da característica hidrofílica daquelas substâncias. Sementes imaturas ou deterioradas apresentam maior rapidez de embebição, em razão da acentuada permeabilidade (Poppinigis, 1977; Carvalho, 1997).

A temperatura e disponibilidade de água são fatores do meio ambiente que controlam os fosfolipídios formadores da membrana lipídica. Durante a embebição, as membranas das sementes adaptadas a altas temperaturas podem apresentar alta permeabilidade para os solutos celulares, reduzindo aparentemente o vigor das sementes em relação às membranas cujos lipídios são adaptados a um menor stress ambiental durante o desenvolvimento da semente. Isso porque, sob maiores temperaturas, a embebição é maior, e conseqüentemente a lixiviação também. Portanto, qualquer variação ambiental é capaz de limitar a habilidade de desenvolvimento da semente, no sentido de sintetizar e organizar a membrana lipídica ideal, requerida no direcionamento do processo de germinação (Basra, 1995).

Segundo Bewley e Black (1994), a absorção de água pela semente ocorre em três fases distintas. A fase I é relativamente rápida, e a absorção de água nessa fase ocorre como uma conseqüência do potencial matricial dos vários tecidos das sementes. Bioquimicamente, essa fase caracteriza-se pelo início da

degradação das substâncias de reserva. Carvalho e Nakagawa (1988) relataram que em uma ou duas horas a semente completaria essa fase, atingindo grau de umidade entre 35 e 40% para sementes cujo principal tecido de reserva é do tipo cotiledonar e 25 a 30% para sementes cujo tecido de reserva é endospermático. Na fase II, Bewley e Black (1994) relatam que a semente praticamente não absorve água, mantendo os níveis de hidratação atingidos no final da fase I, e os potenciais hídricos do solo e da semente estão muito próximos. Nesse ponto, ocorre o transporte dos metabólicos produzidos na fase anterior dos tecidos de reserva para os pontos de crescimento. As sementes diminuem a lixiviação de solutos, na busca de um equilíbrio de trocas (Rosa et al., 2000). Na fase III, ocorre absorção ativa de água, alcançada apenas pelas sementes viáveis e nãodormentes. Nesse estádio, o eixo embrionário já iniciou seu crescimento, e as novas células em processo de formação e crescimento exigem água. Dessa forma, o conjunto semente-plântula volta a absorver umidade. Essa fase se caracteriza pela emissão da raiz primária e pelo crescimento da plântula, cuja performance (Poppinigis, 1977) é influenciada pela qualidade fisiológica da semente.

Dessa maneira, durante o processo de embebição, há liberação intensa de eletrólitos da semente para o meio externo. A liberação inicial é intensa, tanto pelas sementes vigorosas e perfeitas como pelas danificadas, não havendo então diferenças de qualidade entre lotes logo no início da embebição (Rosa et al., 2000). Em sementes de tomate, Sá (1999) constatou 75% do total lixiviado, apenas nas seis primeiras horas de embebição. Com o andamento do processo, a diferença na quantidade de exsudatos liberados entre os lotes é cada vez maior e mais evidente. Isso ocorre porque a liberação de eletrólitos ocorre em intensidade proporcional ao estado de desorganização das membranas. Assim, as sementes mais deterioradas ou danificadas liberam maiores quantidades de exsudatos, incluindo açúcares, ácidos orgânicos, proteínas, substâncias fenólicas,

íons e outros (AOSA, 1983; Vieira, 1994; Penariol, 1997), independente do conteúdo dos mesmos nas sementes (Fagioli, 2001). Bilia (1997), em estudo com sementes de ingá, supõe que o comportamento recalcitrante das sementes tem sido também relacionado a danos nos sistemas de membranas, e que baixos níveis de liberação de exsudatos seriam um indicativo de semi-permeabilidade das membranas.

Em sementes de milho, Fagioli (2001) observou uma diminuição gradual nos teores de carboidratos na solução de embebição com o decorrer do desenvolvimento das sementes. A sacarose foi o açúcar encontrado em maior quantidade, e a arabinose, em menor proporção. Embriões de cevada deteriorados (Desai et al., 1997) perderam de 60 a 70% da sua quantidade de glicose, e de 20 a 30% de sucrose na solução de lixiviação. Prete (1992) relatou que o potássio (K<sup>+</sup>) foi o íon mais presente entre os lixiviados dos grãos de café, encontrando também grandes quantidades de amônia (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e cloro (Cl<sup>-</sup>).

A quantidade de substâncias lixiviadas pela semente reflete então o grau de organização de suas membranas. Aquela semente que lixiviou poucas substâncias reorganizou seu sistema de membranas num curto espaço de tempo, recuperando rapidamente sua permeabilidade seletiva. Sementes com o sistema de membranas muito debilitado são incapazes de impedir uma grande perda de solutos em pouco tempo, pois quanto mais desorganizado seu sistema de membranas, maiores são a quantidade de água embebida e a quantidade de eletrólitos lixiviados. Essas sementes demandam mais tempo e dificuldade no trabalho de reestruturação (Poppinigis, 1977; Desai et al., 1997; Carvalho, 1977).

A quantificação das substâncias lixiviadas é feita pela medição da condutividade elétrica da solução que as contém. O valor de condutividade está associado à maior ou menor eficiência das sementes na recuperação do sistema de membranas e da sua permeabilidade. Assim sendo, baixos valores de

condutividade sugeririam sementes de alto vigor, e altos valores de condutividade estariam relacionados às sementes pouco vigorosas (AOSA, 1983; ISTA, 1995; Paiva Aguero, 1995; Carvalho, 1997). Pelo teste de condutividade elétrica é possível detectar a fase inicial do processo degenerativo, verificar seu efeito sobre a qualidade fisiológica das sementes (Dias e Marcos Filho, 1995), e ainda classificar os lotes em diferentes níveis de qualidade fisiológica (Barros, 1988; Freitas, 1999; Guimarães, 2000; Marchi, 2001).

### 2.3 - Testes de Vigor

A palavra vigor recebeu até hoje inúmeros conceitos surgidos em virtude da ausência de uma relação mais estreita entre a germinação em laboratório e a emergência em campo (Carvalho & Nakagawa, 2000). Dentre alguns conceitos estão: energia de crescimento (Nobbe, 1876); habilidade de um lote de sementes em dar origem a plântulas em campo (Franck, 1950); e a conseqüência da ação conjunta de todas as propriedades da semente que permitem a obtenção de um estande sob condições favoráveis (Isely, 1957).

Durante vários anos a avaliação da qualidade fisiológica das sementes foi realizada apenas por meio do teste padrão de germinação. Portanto, segundo Nobbe (1876), sementes que possuem a mesma capacidade de germinação podem ser distintas na eficiência com que realizam o processo, na capacidade de armazenagem (Carvalho & Nakagawa, 2000) e no potencial de emergência em campo (ISTA, 1995). A porcentagem de sementes que germinam é uma medida quantitativa da viabilidade do lote (ISTA, 1995). Os lotes de sementes possuem diferentes graus de deterioração, e o teste de germinação indica o estádio final desse processo (Krzyzanowski et al., 1999). Além disso, causas específicas da deterioração das sementes levam ao desenvolvimento de anormalidades

específicas na plântula (Martins, 1993). Há então a necessidade de testes que detectem diferenças de qualidade fisiológica entre lotes de germinação ou viabilidade semelhantes.

Os testes de vigor são mais sensíveis do que o teste de germinação na avaliação da qualidade fisiológica. Quaisquer eventos metabólicos que precedam a perda do poder germinativo podem servir como base para avaliar o vigor. Porém, quanto mais aquém da perda do poder germinativo estiver esse evento, mais sensível será o teste (Krzyzanowski et al., 1999). Assim, como a deterioração começa pela degradação do sistema de membranas, os testes mais sensíveis para predizer o vigor são aqueles que avaliam a estrutura dessas membranas (Basra, 1995; Desai et al., 1997; Krzyzanowski et al., 1999). Em sementes de soja, Vieira et al. (2001) verificaram a redução do vigor pelos testes de condutividade elétrica e de envelhecimento acelerado precedendo a queda da germinação. Danos do sistema de membranas de sementes de milho (Rosa et al., 2000) e de soja (Paiva Aguero, 1995) associados à secagem artificial são detectáveis pelo teste de condutividade elétrica, e o aumento no nível do dano é proporcionalmente acompanhado pelo aumento nos resultados do referido teste.

Segundo Krzyzanowski et al., (1999), um bom teste de vigor deve ser simples, objetivo, rápido, reproduzível e de baixo custo. O teste de condutividade elétrica atende a quase todos esses critérios. É de fácil padronização, pois fundamenta-se em base teórica consistente, fornece resultados reproduzíveis, é simples, de baixo custo, e rapidamente executável (Sá, 1999). Andrade et al. (1995) também afirmam ser o teste de condutividade elétrica o mais indicado para estimar o vigor graças à facilidade de execução, objetividade e rapidez para sua execução.

Dentro de um mesmo laboratório, testes como envelhecimento acelerado e condutividade elétrica apresentaram um bom grau de padronização e reprodutibilidade, tanto na metodologia de execução, quanto na interpretação

dos resultados (Delouche, 1975; AOSA, 1983; Krzyzanowski & Miranda, 1990). Os laboratórios de controle de qualidade das grandes empresas de sementes utilizam alguns desses testes, e sua padronização e reprodutibilidade são rotineiras e facilmente comprovadas (Delouche, 1975; Tekrony, 1983; Hampton & Tekrony, 1995). Também de uso rotineiro em laboratórios de análise estão os testes de condutividade elétrica e tetrazólio, com atenção especial para esse último, que exige um treinamento minucioso para os analistas na intenção de corrigir desvios de interpretação (Krzyzanowski & Miranda, 1990; Vieira et al., 1998). Dos testes recomendados pela AOSA (1983), resultado de 40 anos de pesquisas e debates, somente o teste de condutividade elétrica em sementes de ervilha tem condições de ser aceito universalmente.

Trabalhando com sementes de soja, Dias (1994) e Carvalho (1997) concluíram que o teste de condutividade elétrica é eficiente para avaliar o potencial de vigor e germinação, apresentando correlação significativa com a lixiviação de potássio e o potencial de vigor das sementes. A condutividade elétrica correspondeu de modo mais satisfatório com a emergência das plântulas de soja (Dias, 1994) e de girassol (Pianoski, 2000) no campo. Segundo Barros (1988), a condutividade elétrica foi eficiente na separação de lotes de sementes de soja com diferentes níveis de vigor, com rapidez e sensibilidade. Os resultados do teste de condutividade elétrica de lotes de sementes de uma mesma espécie apresentam uma grande variabilidade entre si. Portanto, para diferenciação de vigor entre lotes torna-se necessária a existência de padrões de valores que estabeleçam limites entre o vigor alto e o intermediário, e entre esse e o vigor baixo.

Outra dificuldade referente aos resultados do teste de condutividade elétrica é a unidade em que são expressos, dificultando estabelecer uma comparação direta entre esse teste e os demais testes de vigor. Os valores de condutividade elétrica são expressos em  $\mu S^{-1}.cm^{-1}.g$ , ao passo que a maioria dos

testes de vigor são expressos diretamente em porcentagem de vigor. A interpretação dos resultados do teste de condutividade elétrica está ao alcance apenas dos analistas de sementes e de outros pouquíssimos profissionais ligados à área. Pequenos produtores, agricultores e consumidores de sementes necessitam de auxílio para a interpretação do vigor por meio desses resultados, para que não o façam de maneira errada e não tomem decisões que possam trazer prejuízo e perdas irreversíveis (Dias, 1994; ISTA, 1995; Krzyzanowski et al., 1999).

A avaliação da condutividade elétrica, como teste de vigor em sementes, apresenta hoje duas alternativas, ou seja, o sistema mais usual conhecido como Condutividade de Massa ou sistema de copo (em inglês "Bulk Conductivity") e uma segunda alternativa, que é por meio da avaliação da condutividade individual de sementes.

#### 2.4 – Condutividade Elétrica

O teste de condutividade elétrica é um método rápido e prático de determinação do vigor de sementes, podendo ser conduzido facilmente na maioria dos laboratórios de análise, sem maiores despesas com treinamento de pessoal e equipamentos. Isso é feito avaliando-se a quantidade de lixiviados liberados internamente da semente para a solução de embebição, em consequência do grau de deterioração em que ela se encontra, e desse modo, inferir sobre o nível de vigor daquela semente ou do lote, ou pelo menos, sobre o possível uso e manejo das mesmas. As sementes mais deterioradas ou danificadas liberam maiores quantidades de solutos citoplasmáticos para a solução de embebição, pois seu sistema de membranas encontra-se num estado mais desorganizado. Assim, os valores de condutividade elétrica são maiores, por causa da maior presença de íons condutores de eletricidade nessa solução

(AOSA, 1983; Basra, 1995; ISTA, 1995; Carvalho, 1997; Desai et al., 1997; Krzyzanowski et al., 1999).

#### 2.4.1. Condutividade Elétrica de Massa

O início da utilização do teste de condutividade elétrica se deu na década de 20 para estimar a viabilidade de sementes de capim timóteo e de trevo vermelho (Fick & Hibbard, 1925), e de ervilha, trigo, milho, feijão e capim timóteo (Hibbard & Miller, 1928).

Com base nesses estudos, a quantificação da condutividade elétrica da solução de embebição das sementes começou a ser estudada como um teste de vigor para várias espécies (Matthews & Powell, 1981; AOSA, 1983; Marcos Filho et al., 1987), dentre as quais pode-se mencionar o algodão (Presley, 1958; Halloin, 1975; Hopper & Hinton, 1987), a ervilha (Bradnock & Matthews, 1970; Perry & Harrison, 1970; Matthews & Carver, 1971; Caliari & Marcos Filho, 1990; Nascimento & Cícero, 1991); o feijão (Matthews & Brandnock, 1968; Lin, 1988; Hampton et al., 1992); o milho (Herter & Burris, 1989; Bruggink et al., 1991; Bilia, 1992; Minohara, 1992; Fagioli, 1997; Ribeiro, 1999; Rosa et al., 2000; Marchi, 2001); a soja (Tao, 1978 e 1980; Marcos Filho et al., 1982 e 1990; Loeffler et al., 1988; Bergamaschi, 1992; Hampton et al., 1992; Dias, 1994; Paiva Aguero, 1995; Penariol, 1997; Panobianco, 1997; Hamman et al., 2001; Vieira et al., 2001) e várias outras espécies como relatado por Powell (1986). Dentre todas essas espécies, o teste tem sido extensivamente usado para avaliar o vigor de sementes de ervilha na Inglaterra, Austrália e Nova Zelândia (Hampton et al., 1992).

Apesar de ser classificado apenas como um teste bioquímico (Woodstock, 1973; AOSA, 1983), o teste de condutividade elétrica envolve mais dois princípios, um físico e outro biológico. Isso porque na determinação da

condutividade elétrica da solução de embebição da semente avalia-se a passagem de corrente elétrica por essa solução, caracterizando um fenômeno físico. Para que ocorra a lixiviação e a consequente medida da condutividade, alterações na integridade das membranas celulares ocorrem em função do grau de deterioração, ou seja, de alterações bioquímicas que permitiram a perda de diferentes quantidades de eletrólitos, em consequência do estado de organização do sistema de membranas celulares da semente. Segundo Matthews & Powell (1981) o processo de lixiviação do embrião e da semente é um fenômeno de difusão física, já que ocorre tanto em tecido vivo como morto.

Trabalhando com sementes de jacarandá, Marques (2001) verificou a eficiência do teste de condutividade elétrica na diferenciação de lotes de sementes. Os resultados de condutividade apresentaram alta associação com os obtidos na germinação em condições de laboratório e de viveiro.

Em estudo do teste de condutividade elétrica com sementes de milho, Fagioli (2001) afirma que o teste é adequado para avaliar o vigor das sementes dessa espécie, e ainda indicou a aplicação do teste em estudos que envolvem a evolução da formação de membranas celulares, na associação com outros testes de vigor em laboratórios de análise, e em programas de controle de qualidade de empresas produtoras de sementes.

O teste de condutividade elétrica mostrou-se o mais indicado para estimar o vigor de sementes de cenoura (Andrade et al., 1995), em razão da facilidade de execução, objetividade e rapidez. Guimarães (2000) atestou o teste de condutividade elétrica como um marcador relacionado à determinação do grau de estruturação de membranas e qualidade fisiológica de sementes de cafeeiro.

O teste de condutividade elétrica em sementes de milho (Fagioli, 2001) tem aplicação na associação com os estádios de desenvolvimento das sementes com base na linha de transformação do amido (LTA). Quanto mais líquido o

endosperma (LTA1), maiores os valores de condutividade, ou seja, menor o vigor das sementes. Sementes com o endosperma completamente solidificado (LTA5) foram classificadas como as de maior vigor. Isso é explicado pelo fato de as sementes imaturas (LTA1 e LTA2) possuírem o sistema de membranas celulares em formação, apresentando permeabilidade ainda não satisfatória no fluxo de solutos da célula.

Segundo Panobianco (2000), a avaliação do vigor de sementes de tomate pelo teste de condutividade elétrica é menos adequada, pois os resultados são influenciados pelo conjunto de íons e características do embrião. A eficiência do teste variou com o tipo de híbrido estudado. Freitas (1999) também não observou correlação em sementes de algodoeiro de todas as variedades e os testes de envelhecimento, emergência em campo e germinação a baixas temperaturas. Diferenças entre genótipos já foram observadas para milho (Tao, 1980; Bruggink et al., 1991), ervilha (Bedford, 1974) e soja (Bergamaschi, 1992). A AOSA (1983) afirma que certas características da cultivar podem mascarar as diferenças de vigor entre genótipos.

Recomenda-se para a execução do teste o uso de duas repetições de 50 sementes (Matthews & Powell, 1981), ou quatro de 25 (AOSA, 1983; Marcos Filho et al., 1987; Kryzanowski et al., 1991. Vieira, 1994). Deve ser prioritário o uso de maior número de repetições e de sementes por repetição, já que, nesse caso, ocorre uma redução do coeficiente de variação, obtendo-se maior uniformidade dos resultados entre repetições (Loeffler et al., 1988).

As sementes devem ser pesadas e posteriormente colocadas para embeber em um recipiente contendo a mesma quantidade de água deionizada para todas as repetições. Pode-se utilizar um béquer ou erlenmeyer (125-200ml), como também um copo plástico (200ml). Utilizam-se geralmente 75ml de água deionizada (≤2μS . cm<sup>-1</sup> de condutividade), e então as amostras são mantidas em uma câmara (BOD) à temperatura de 25°C durante 24 horas.



Após o período de 24 horas, faz-se a leitura da condutividade elétrica na solução de embebição usando-se condutivímetros. O aparelho deve apresentar eletrodo com constante de 1,0. Esse eletrodo deve ser calibrado sempre quando se inicia um novo trabalho. Para tal, pode-se usar uma solução de cloreto de potássio (KCl), a qual é preparada diluindo-se 0,745g de KCl puro em 1 litro de água deionizada, secado à temperatura de 80°C por oito horas, e resfriado em dessecador antes da pesageim. Nessa solução, o aparelho deverá marcar 1273 μS . cm<sup>-1</sup> a 20°C ou 1408 μS . cm<sup>-1</sup> a 25°C.

A leitura de cada amostra deve ser feita imediatamente após a retirada do material da câmara, agitando cada recipiente suavemente e de um modo padronizado, permitindo assim uma uniformização dos lixiviados na solução, já que, durante o período de embebição, os lixiviados tendem a se concentrar na superfície externa das sementes (Loeffler, 1981).

Recomenda-se retirar uma quantidade de recipientes cujas leituras possam ser feitas num intervalo de 15 minutos (Loeffler et al., 1988), para evitar alteração na temperatura da solução de embebição, que pode influenciar os resultados do teste de condutividade.

#### 2.4.2 - Condutividade Elétrica Individual

O princípio é o mesmo do sistema de massa, e a metodologia sofre alteração no método de embebição e quanto ao aparelho que realiza as leituras, o SAD 9000-S. As sementes são colocadas numa bandeja com 100 células individuais, às quais adicionam-se de 2 a 3ml de água deionizada. Após o período de embebição é feita a leitura usando-se um analisador automático-eletrônico, o qual mede a passagem de corrente elétrica na solução de embebição em cada célula, apresentando os resultados individualmente para cada semente. Isto permite a identificação de sementes com algum tipo de injúria. O SAD

9000-S não realiza ajustes automáticos pelas diferenças em tamanho entre as 100 sementes analisadas, portanto, é possível que as 100 sementes sejam pesadas previamente à análise, possibilitando o reconhecimento da condutividade elétrica em  $\mu$ S/cm/g.

O fabricante do aparelho SAD-9000-S recomenda o uso de um ponto de partição para estimar a germinação de cada espécie, ou seja, separa em sementes viáveis e não viáveis quando estas apresentam condutividade abaixo ou acima desse ponto de partição, respectivamente. Em testes de laboratório cuja finalidade é estimar a emergência em condições de campo, o analista pode modificar os valores de corte de acordo com o seu interesse em relação a um teste mais ou menos rígido. Reduzindo os valores de corte, o teste será mais exigente e estar-se-ia realizando uma estimação mais concreta da emergência, supondo que essa possa ser realizada em condições de estresse ambiental.

Acredita-se que o uso do teste de condutividade elétrica individual de sementes seja mais apropriado para trabalho de pesquisa, mas com possibilidade efetiva de uso muito menor por produtores de sementes do que o sistema de massa (Kryzanowski et al., 1991; Ribeiro, 1999; Hamman et al., 2001). Segundo os autores, as possibilidades de uso como teste de vigor são muito mais efetivas para a condutividade de massa do que a individual. A condutividade de massa já é recomendada como teste de vigor para sementes de ervilha (Bradnock & Matthews, 1970; Matthews & Marcos Filho, 1990; Caliari & Marcos Filho, 1990, Nascimento & Cícero, 1991) e sugerida para sementes de soja (Hampton & Tekrony, 1995). Em sementes de milho (Ribeiro, 1999) e de soja (Hamman et al., 2001) com diferentes níveis de vigor, os autores conseguiram a diferenciação de lotes tanto pelo método de massa como pelo individual, e ainda Ribeiro, (1999) definiu o tempo de 24 horas de embebição como o melhor na estimativa da viabilidade pelo teste de condutividade elétrica individual.

Andrade et al., (1995), num estudo de correlação entre testes de vigor em sementes de cenoura, concluíram ser necessária a definição de uma faixa de valores que delimitem níveis de vigor diferentes. Apesar de a correlação ter sido significativa entre os períodos de embebição e as diferenças entre as médias dos lotes, estas podem estar associadas ao grau de deterioração, dependendo das sementes e/ou características do lote. Fagioli (1997) sugeriu o uso de intervalos de valores de condutividade elétrica para proporcionar populações de campo adequadas, desde que a semeadura seja realizada em condições mais próximas das ideais.

O teste de germinação é usado como teste de referência para a condutividade individual, e pode ser utilizado também para estimação do vigor, realizando uma avaliação de plântulas pelo seu vigor. Heydecker (1972) ainda acrescenta que o vigor está intimamente relacionado à viabilidade da semente, e que a perda dessa viabilidade geralmente ocorre sucessivamente à perda de vigor. A ISTA (1995) enfatiza que a porcentagem de sementes germinando é uma medida quantitativa da viabilidade do lote. Para um lote de sementes vivas dormentes, a porcentagem de sementes viáveis é desvendada pelo teste de tetrazólio, cujos resultados expressam uma estimativa da viabilidade de sementes (Vieira et al., 1998).

O estabelecimento pontos de partição, segundo Hamman et al., (2001), não propicia uma estimativa do nível de vigor da semente. Muitas sementes que emergiram tinham a mesma condutividade das sementes de todas as categorias não emergidas. Os mesmos autores ainda afirmam que sementes com baixa condutividade não emergem necessariamente antes das sementes com condutividade alta. Dessa forma, a análise individual da condutividade elétrica vem dar suporte ao estudo detalhado da performance da semente, ou da plântula a que deu origem, verificando o andamento do processo deteriorativo na redução do padrão de germinação da espécie.

# 2.4.3 - Fatores que Afetam os Resultados da Condutividade Elétrica

Os fatores que influenciam os resultados do teste de condutividade elétrica são vários. Entre eles, está a característica de cada semente no momento da retirada da amostra para execução do teste. Muitas sementes, por ocasião da colheita, beneficiamento ou armazenamento, encontram-se danificadas, seja por trincas, rachaduras, quebras ou amassamentos.

Os danos físicos ou mecânicos podem ocorrer durante a colheita, condicionamento, transporte, armazenamento inadequado ou manuseio incorreto. Os danos físicos por falta e excesso de água são as trincas, quebras, rachaduras e amassamento, respectivamente. Dependendo da extensão e localização do dano, a viabilidade ou vigor da semente pode ser reduzido. A colheita mecânica pode danificar as sementes, dependendo da colhedora, da velocidade do cilindro, da umidade da semente, variedade e posição da semente. Os danos causados por todos esses fatores são capazes de reduzir substancialmente a emergência das plântulas no campo (Basra, 1995; Desai et al., 1997).

AOSA, (1983), Marcos Filho et al., (1987), Fratin (1987) e Kryzanowski et al., (1991) recomendam selecionar as sementes antes do uso, eliminando-se aquelas que apresentam algum tipo de injúria. No laboratório de análise de sementes, no caso do teste de rotina que esteja dentro de um sistema de controle de qualidade, a escolha das sementes não é justificada, visto que a repetição utilizada não estaria representando o lote a ser testado. Nesse caso, Loeffler et al.; (1988) recomenda usar sementes puras, como para qualquer outro dos testes a ser realizado.

Sabe-se que sementes injuriadas causam aumentos significativos na condutividade elétrica de um determinado lote de sementes (Tao, 1978), mas é

impraticável e muito subjetivo identificar e selecionar visualmente as sementes danificadas ou atacadas por algum fungo (Loeffler et al., 1988).

Em estudos com sementes de feijão, Afonso Júnior (1996) tentando detectar danos imediatos e latentes após secagem, entendeu ser necessária a seleção das sementes defeituosas. Sato (1991) também eliminou as sementes danificadas e trincadas para estudar o efeito de seleção de espigas e da debulha na qualidade de sementes de milho.

Há uma grande divergência de opiniões entre vários autores sobre a possibilidade de se retirarem da amostra essas sementes danificadas, mas essa tomada de decisão deve levar em consideração o objetivo do trabalho.

Podem existir diferenças na condutividade elétrica entre genótipos de uma mesma espécie (Santos, 1994; Paiva Aguero, 1995; Panobianco, 1997; Sá, 1999). Von Pinho (1995) observou baixa relação entre o vigor genético dos híbridos de milho estudados e a integridade de membranas. Para estudar a heterose na qualidade fisiológica de sementes de milho, Gomes (1999) selecionou as sementes que se apresentavam visualmente danificadas.

Mesmo retirando as sementes com tegumento danificado para estudar o vigor de sementes de genótipos de soja, Santos (1994) encontrou maiores valores de condutividade elétrica nos lotes que apresentaram maior percentual dessas sementes danificadas. Nesses casos, deve-se evitar que outros fatores, que não o genótipo, influenciem os resultados finais do teste. Logo, justifica-se o uso de sementes selecionadas em estudos dessa natureza, dando-se preferência para o uso de sementes colhidas e trilhadas manualmente (Sato, 1991).

A remoção de semente injuriada é uma tarefa bastante subjetiva e imprecisa. Na seleção, semente com ausência de dano mecânico no tegumento nem sempre significa exatamente semente sem injúria mecânica.

Oliveira et al. (1984) observou que melhores correlações entre condutividade e emergência em campo foram obtidas quando a amostra para

determinação da condutividade foi retirada da fração semente pura, comparada àquela de onde as sementes danificadas foram removidas. Com a eliminação de sementes danificadas ocorre uma superestimação do vigor do lote de sementes (Powell, 1986), e por isso, para que a amostra represente da melhor maneira o lote ao qual se refere. Brasil (1992) indica o uso de amostras obtidas a partir da fração semente pura na determinação de condutividade elétrica em trabalhos de rotina nos laboratórios de análise de sementes.

Trabalhando com grãos de café, Giranda (1998) avaliou a qualidade dos mesmos quando submetidos à secagem. Para tal, não selecionou os grãos defeituosos, e verificou que a condutividade elétrica foi influenciada pelos defeitos, tipo de seca e matéria-prima empregada. Amostras de café com defeitos (Prete, 1992; Giranda, 1998) apresentaram os maiores valores de condutividade elétrica.

Segundo Tao (1978), duas sementes mecanicamente danificadas em uma amostra de 25 sementes aumenta significantemente a condutividade, comparada à amostra com sementes sem injúrias. Então, no caso de o lote apresentar 10% ou menos de sementes injuriadas, a autora sugere a remoção dessas sementes para avaliação da condutividade, porém, no caso de serem superiores a 10% devem ser mantidas.

Outro fator de extrema importância no teste de condutividade elétrica é o teor de água inicial das sementes, conforme já comentado. Tem-se observado que o teor de água de sementes de soja, no início do teste, deve-se situar entre 11 e 17% (AOSA, 1983). No entanto, para mesma espécie Tao (1978) e Loeffler et al., (1988) recomendam o uso de sementes com teor de água entre 13 e 18%. Quanto maior o teor de água menores os valores de condutividade, reduzindo a saída de eletrólitos (Vazquez, 1995).

Quando o teor de água se situa abaixo de 11%, o valor da condutividade elétrica aumenta significativamente (Tao, 1978; Loeffler et al., 1988; Hampton

et al., 1992; Bilia, 1997). Aumentos significativos na condutividade elétrica de sementes de soja e feijão-mungo foram constatados quando o teor de água das sementes era inferior a 10% (Hampton et al., 1992 e Hamman et al., 2001), e inferior a 11% em feijão (Afonso Júnior, 1996). Os danos de embebição em sementes de soja que embeberam com 10% de umidade inicial foram mínimos (Hamman et al., 2001). Em grãos de café, também foi observado o aumento nos valores de condutividade com a diminuição do teor de água (Prete, 1992).

Os valores de condutividade elétrica em sementes de ingá, tanto em sementes recém-colhidas, quanto em sementes secas, indicaram a mesma diferenciação de lotes quanto ao nível de qualidade. A diferença entre os valores quantitativos de condutividade elétrica quando calculados pelo peso de matéria seca, que foram bem maiores (Barbedo, 1997). Bilia (1997) obteve resultados semelhantes com a mesma espécie, portanto, calculou a condutividade em sementes recém-colhidas, e novamente após essas terem passado pelo processo de secagem e posterior armazenamento. No caso de separação de lotes de sementes em diferentes níveis de qualidade fisiológica, é indicada a uniformização do teor de água dos lotes antes da avaliação da condutividade elétrica (ISTA, 1995).

Existem controvérsias em relação ao efeito de produtos químicos nos resultados do teste de condutividade elétrica. Estudos realizados mostraram que o tratamento da semente com fungicida não afeta os resultados da condutividade de sementes de soja (Mc Donald Jr. & Wilson, 1979; Loeffler et al.; 1988) e de milho (Marchi, 2001). Nos estudos com soja utilizarando-se os fungicidas Carboxin, Thiran e Captan não se verificaram efeitos de produtos químicos na classificação entre os diferentes níveis de vigor dos lotes de sementes, segundo Marchi (2001).

Pelo teste de condutividade elétrica, Mantovaneli (2001) detectou o mesmo nível de qualidade nas sementes de milho, tanto antes, quanto após o

armazenamento por 12 horas, provavelmente em virtude da fitotoxidade exercida pela mistura de Thiabendazole com Thiran.

Em sementes de feijão houve maior lixiviação de solutos para o meio nas sementes sem tratamento em relação àquelas tratadas com Carboxin e Thiran. Isso pode ser uma consequência da obstrução pelo fungicida à passagem de solutos pelas membranas celulares das sementes, ou até mesmo da neutralização da condutividade pelo produto. Por ser um meio de manter ou melhorar o vigor das sementes, esse tratamento estaria prejudicando a eficiência do teste de condutividade elétrica na avaliação do vigor (Frattini, 1995). Martins (1993) destaca que produtos químicos aplicados em doses e de forma incorretas também contribuem para acelerar a perda de qualidade das sementes no campo.

Os números de sementes e de repetições utilizados são também capazes de afetar os resultados do teste de condutividade elétrica.

Quanto menor o número de repetições e de sementes por repetição, maior é a variabilidade entre os resultados (Fratin, 1987; Loeffler et al., 1988). Recomenda-se o uso de quatro repetições de 50 sementes (Loeffler et al., 1988; Hampton et al., 1992; Vieira, 1994), pois menores coeficientes de variação foram obtidos quando foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes na determinação da condutividade elétrica de sementes de soja, feijão e feijãomungo. Ribeiro (1999) afirma que repetições de 25 e de 50 sementes permitiram a diferenciação entre lotes de sementes de milho, independente do nível de qualidade das sementes. No entanto, Sá (1999) e Ribeiro (1999) recomendam o uso de 25 sementes para a condução do teste, havendo economia no tempo e no material empregados para o teste.

As temperaturas de embebição e de avaliação também influenciam a quantidade e a velocidade de perda de lixiviados para a solução de embebição. Em sementes de soja, foram observados aumentos significativos de condutividade em função de aumento da temperatura de embebição (Tao, 1978;

Loeffler et al., 1988). Esse efeito tem ocorrido na magnitude do valor de condutividade, porém sem alterar a classificação dos lotes.

Além da temperatura de embebição, a temperatura de avaliação pode ter efeito significativo e direto sobre os resultados da condutividade, de acordo com Loeffler et al., (1988), que verificaram que aumentos ou reduções de 5°C na temperatura de avaliação alteram significativamente os resultados da condutividade.

O tempo em que as sementes permanecem embebendo varia de espécie para espécie e, dentro de uma mesma espécie, com a diferença de vigor entre os lotes.

No caso de espécies de sementes grandes como o milho e a soja, Vieira (1994), ISTA, (1995), Kryzanowski et al., (1991), e Ribeiro (1999) sugerem um período de embebição de 24 horas; porém, principalmente quando a diferença de vigor entre os lotes é grande, a separação de sementes de soja pode ser obtida já nas primeiras horas de embebição, ou seja, com períodos de embebição menores. Considerando-se então que um teste de vigor será mais eficiente quanto melhor for a separação entre lotes de sementes com estreita variação no nível de vigor, e também considerando a organização das atividades do laboratório de análise, recomenda-se o período de 24 horas (Kryzanowski et al., 1991; Ribeiro, 1999; Hamman et al., 2001). Ribeiro (1999) indica 24h de embebição para determinação do potencial de viabilidade, mas garante que com 18h, para amostras de 25 e 50 sementes, já é possível a diferenciação de lotes, independente dos seus níveis de qualidade.

Existe variabilidade na permeabilidade do tegumento entre os genótipos de sementes de soja (Vieira et al., 1983; Costa et al., 1984; Kuo, 1989; Marcos Filho et al., 1990) e de milho (Bruggink et al., 1991; Ribeiro, 1999) e, portanto, um maior período de embebição permite que todos lixiviem e apresentem seu pico máximo, mesmo que seja em períodos diferentes. As diferenças no controle

de troca de umidade nas sementes observadas entre cultivares (Costa et al., 1984), na velocidade de embebição das sementes (Poppinigis, 1977), nas consequências de variação na forma, no tamanho e funcionalidade dos poros, e na quantidade de material ceroso na epiderme do tegumento (Ragus, 1987; Panobianco, 1997).

Variações nos valores de condutividade elétrica em sementes de soja foram observadas entre diferentes genótipos (Panobianco, 1997). A autora atribuiu essas variações aos diferentes conteúdos de lignina no tegumento das sementes.

Em trabalhos com outras espécies, principalmente aquelas consideradas de sementes pequenas, como as olerícolas, o período de embebição pode ser bem menor. Sementes de aipo, alface e cenoura apresentaram 90% da lixiviação num período de 5 a 15 minutos, sementes de tomate apresentaram 75% do lixiviado nas 6 primeiras horas de embebição (Sá, 1999), ao passo que para sementes de colza, ervilha e girassol, o período foi de 14 a 16 horas (Simon & Mathavan, 1986).

O efeito de vários outros fatores sobre os resultados de condutividade também tem sido estudado. Dentre esses, pode-se mencionar a qualidade e volume de água bem como o tamanho do recipiente de embebição utilizado (Bradnock & Matthews, 1970; Tao, 1978; Loeffler, 1981). A água da torneira, dependendo da fonte, pode apresentar condutividade superior a 250μS . cm<sup>-1</sup>. Logo, recomenda-se o uso de água destilada e/ou deionizada, na qual a condutividade não seja superior a 3-5 μS . cm<sup>-1</sup> (Vieira, 1994; Hampton & Tekrony, 1995; ISTA, 1995).

Em algumas espécies, como o girassol, não são analisadas sementes verdadeiras, e sim, frutos secos. Nesse caso, as paredes do fruto ou pericarpo não estão aderidas à semente, ficando uma camada de ar entre ambas. Além disso, nessa espécie a semente apresenta um tegumento muito fino e aderido

intimamente, que junto com a câmara de ar anteriormente mencionada, fazem com que não se contate fácil e rapidamente com a água deionizada do meio externo.

Os resultados do teste de condutividade elétrica em sementes de café colocadas para embeber com o pergaminho sofrem influência dessa estrutura. A presença do pergaminho diminui a absorção de água quando comparada às sementes de café sem endocarpo, segundo Lima (1999). O pergaminho é uma estrutura que faz parte do fruto de café (Prete, 1992), e que junto com a película prateada contêm de 48-49% de água (Giranda, 1998).

Em sementes de algodão, o linter das sementes pode atuar como barreira à penetração de água, dificultando a lixiviação, e interferindo na interpretação dos resultados. Sementes deslintadas apresentam os maiores valores de condutividade elétrica. No deslintamento, são utilizados o ácido sulfúrico e o hidróxido de cálcio e, apesar de as sementes serem lavadas em água corrente, possivelmente devem ter ficado resíduos que podem permanecer aderidos e aumentar a condutividade da solução (Menezes, 1996).

## 2.4.4 - Interpretação dos Resultados

A interpretação dos resultados dos testes de vigor tem sido um dos grandes problemas dentro da tecnologia de sementes, visto que, em geral, não existem parâmetros de comparação. No caso particular do teste de condutividade elétrica, um grande volume de informações tem sido obtido, especialmente com determinadas espécies, tais como ervilha, feijão, soja e milho, porém, em proporções diferentes para cada uma delas (Vieira, 1994). Outras espécies têm sido também estudadas, porém, em menor intensidade. Os testes de vigor não são desenvolvidos para predizer o número de plântulas que irão emergir e

sobreviver no campo, embora muitos desses apresentam alta correlação com a emergência de plântulas em campo (Ferguson, 1993).

Do mesmo modo que para outros testes, os resultados do teste de condutividade elétrica só permitem comparações do potencial fisiológico entre os lotes avaliados, sendo ainda muito difícil inferir sobre o comportamento de lotes de sementes sob condições de campo, visto que esse comportamento estará na dependência das condições climáticas predominantes durante a semeadura e a emergência das plântulas (Hamman et al., 2001). Assim, os resultados deste teste, bem como de outros testes de vigor, no momento poderão ter importância no estabelecimento de programas de controle de qualidade nas empresas produtoras de sementes, onde a princípio o estabelecimento de índices, usando mais de um teste, parece ser o mais indicado (Scott & Close, 1976; Ribeiro, 1999).

A diferença entre valores críticos de condutividade elétrica é observada em sementes de diferentes espécies. Assim, valores variando entre 4 e 30mmhos . cm<sup>-1</sup> para sementes de milho correspondem a lotes que se situam em categorias consideradas de alto a baixo vigor, quando comparados a outros testes de vigor. No caso da soja, sementes com condutividade elétrica até 60-70mmhos. cm<sup>-1</sup> têm sido consideradas como de alto vigor, enquanto 70-80mmhos . cm<sup>-1</sup> já são valores com tendência para médio vigor (Vieira, 1994).

No caso de sementes de soja, Paiva Aguero (1995) verificou que a condutividade elétrica pode estimar com alto grau de precisão o desempenho das mesmas no campo, desde que a semeadura seja realizada sob condições mais favoráveis. Dentro desse contexto, os resultados do teste de condutividade elétrica podem ser usados para classificar os lotes avaliados e, então, permitir tomadas de decisão sobre o uso mais conveniente dos mesmos, dentro da própria empresa. Entretanto, o uso única e exclusivamente dos resultados do teste de condutividade elétrica, no sentido de prever o comportamento de lotes de

sementes sob condições de campo, ou mesmo depois de determinado período de armazenamento, é praticamente impossível no estádio atual de conhecimentos, sendo extremamente importante o uso conjunto com outro teste de vigor.

Vieira et al., (2001) estudaram o comportamento de sementes de soja armazenadas em diferentes locais e condições de temperatura pelo teste de condutividade elétrica. Não houve mudanças significativas nos valores de condutividade elétrica para todos os níveis de vigor, durante o armazenamento a 10°C em embalagens impermeáveis. Os autores concluem que o teste de condutividade elétrica não é um bom indicador do vigor de sementes de soja armazenadas a baixas temperaturas.

O teste classifica os lotes qualitativamente usando unidades ou valores que não são pronta e facilmente compreendidos pelos agricultores e comerciantes de sementes. Além do mais, ao contrário de vários outros testes de vigor, que expressam os resultados em percentagem, no teste de condutividade elétrica, quanto maior o valor da condutividade menor será o vigor do lote de sementes. Segundo Berkey (1993), a indústria de sementes está em frente de um dilema, ou seja, o seu relacionamento com o consumidor de sementes e o entendimento deste sobre vigor de sementes.

Por outro lado, pelo fato dos resultados dos testes de vigor terem sido usados basicamente pelas empresas produtoras, apesar de todo o avanço conseguido ao longo dos últimos anos, é inaceitável que também os agricultores, principais consumidores de sementes, não possam usar e tirar proveitos e, principalmente, entender a importância do vigor para a aquisição do produto a ser utilizado por eles.

# 3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras-MG, no período de março de 2001 a março de 2003.

# 3.1 - Caracterização dos lotes

## 3.1.1 - Sementes Utilizadas

Foram utilizados 10 lotes de sementes de café da cultivar Acaiá, provenientes de diferentes produtores do sul do Estado de Minas Gerais, sendo 5 lotes da safra 2001 e 5 lotes da safra 2002.

Para uma descrição mais simplificada os lotes foram enumerados de 1 a 10, conforme o nome do produtor ou empresa produtora, a procedência do lote, e o ano de colheita (Tabela 1).

ΓABELA 1 - Identificação dos lotes de sementes de café, cultivar Acaiá nome do produtor ou empresa produtora, procedência e ano da safra. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Lote	Produtor / Local	Safra
1	Epamig - Lavras-MG	2001
2	Epamig - Machado-MG	2001
3	Epamig - Três Pontas-MG	2001
4	Fazenda Mapuá – Lavras-MG	2001
5	João Batista Ferrone -	2004
3	Três Pontas-MG	2001
6	Epamig - Lavras- MG	2002
7	Epamig – Machado-MG	2002
8	Epamig - Três Pontas-MG	2002
9	Fazenda Mapuá – Lavras-MG	2002
10	UFLA - Lavras-MG	2002

O trabalho foi realizado em duas fases distintas. Foram determinados o teor de água de cada lote e a curva de embebição das sementes com e sem o pergaminho, verificada a possibilidade de utilização do teste de condutividade elétrica individual e de massa, e estabelecido o melhor tempo de embebição para avaliação da qualidade de sementes de café, comparando os resultados com os dos testes convencionais. Posteriormente foi estabelecido o ponto de partição de condutividade elétrica para a comercialização das sementes de café.

## 3.1.2 - Determinação da Umidade

Foi realizada pelo método de estufa a 105°C por 24 horas, utilizando-se duas amostras de sementes de cada lote, conforme as recomendações de Brasil (1992). Esse procedimento foi repetido até que os lotes atingissem um teor de água aproximadamente uniforme.

# 3.1.3 – Construção da Curva de Embebição

Foram obtidas duas curvas de embebição para cada lote, sendo uma referente às sementes que embeberam com o pergaminho e outra relativa às sementes que embeberam sem o pergaminho. Para cada curva, utilizaram-se 4 repetições de 50 sementes, que foram previamente pesadas, e posteriormente colocadas para embeber em água destilada, a 25°C em BOD. A cada intervalo de 12 horas (Camargo, 1998), as amostras eram retiradas da BOD, o excesso de água superficial era retirado e cada amostra era pesada e colocada em água

novamente e assim sucessivamente até que a fase I da embebição tivesse sido completada.

A partir de um ponto médio de estabilização das curvas de embebição entre os lotes, foram tomados mais dois valores de tempo superiores e mais dois inferiores a esse ponto médio. Dessa forma, obtendo-se cinco valores referentes aos tempos de avaliação dos testes de condutividade elétrica individual e em massa.

#### 3.1.4 – Teste de Germinação (TG)

Foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes para cada lote, e como substrato, o papel toalha tipo Germitest, umedecido com uma quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Os papéis com as sementes sem pergaminho foram acondicionados em forma de rolo em germinador com temperatura constante de 30°C. As avaliações foram feitas aos 15 e 30 dias após a semeadura (Brasil, 1992).

#### 3.1.5 – Teste de Tetrazólio (TZ)

Utilizaram-se 4 repetições de 50 sementes por lote. As sementes sem o pergaminho foram colocadas para embeber em água destilada por 36 horas, em BOD regulada a 25°C. Durante a extração, os embriões permaneceram em solução de PVP (polivinilpirrolidona) para evitar oxidação. A coloração foi feita em solução de tetrazólio (0,5%) por um período de 3 horas, em BOD a 30°C (Vieira et al., 1998). Após a coloração, os embriões foram lavados em água

corrente e avaliados quanto à sua viabilidade, de acordo com a coloração, o local, e a extensão do dano.

# 3.2 - Teste de Condutividade Elétrica de Massa

Foi realizado com 4 repetições de 50 sementes com pergaminho e 4 repetições de 50 sementes sem pergaminho, para cada lote. Realizou-se a medição da condutividade elétrica em μS.cm<sup>-1</sup>, por meio de um condutivímetro. Cada repetição de 50 sementes foi colocada em copos plásticos com capacidade de 200ml, aos quais foram adicionados 75ml de água destilada e deionizada. Os copos plásticos foram então acondicionados para embeber em BOD, com temperatura constante de 25°C, e as avaliações foram feitas em intervalos de 24 horas.

### 3.3- Teste de Condutividade Elétrica Individual

Para a execução desse teste, foi utilizado o Analisador Automático de Sementes SAD-9000-S, que analisa a condutividade elétrica da solução de eletrólitos lixiviados de cada semente, individualmente.

As sementes com e sem pergaminho foram acondicionadas individualmente em bandejas com 100 células contendo água destilada e deionizada. Foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes, de modo que cada bandeja continha 2 lotes, totalizando 100 sementes para cada uma das 5 bandejas.

Além dos valores de condutividade de cada célula, o aparelho forneceu os valores da condutividade média do lote, os quais foram média do lote foram expressos em μS/cm.

### 3.4 - Determinação do Ponto de Partição

Para determinar os valores de pontos de partição para sementes de café, necessários para avaliação da viabilidade pelo teste de condutividade elétrica individual realizado pelo Analisador Automático de Sementes SAD-9000-S, foram utilizadas sementes dos 10 lotes descritos na Tabela 1.

#### 3.4.1 – Teste de Condutividade Elétrica Individual

Foi realizado utilizando-se 2 repetições de 50 sementes por lote. As sementes foram embebidas por 96 horas, e a leitura da condutividade foi realizada pelo Analisador Automático de Sementes SAD-9000-S, que forneceu os valores de condutividade elétrica de cada semente e o valor do lote em  $\mu S$ . cm<sup>-1</sup>. Os valores da condutividade elétrica dos lixiviados de cada semente foi devidamente identificado, para posteriormente serem correlacionados aos respectivos resultados do teste de germinação.

#### 3.4. 2 – Teste de Germinação (TG)

Imediatamente após a leitura da condutividade elétrica de cada semente da amostra, essas mesmas sementes foram submetidas ao teste de germinação.

De cada célula da bandeja em que ocorreu a lixiviação foi retirada a semente, e na mesma ordem em que se encontrava na bandeja foi semeada no papel de germinação. As 50 sementes de cada lote retiradas da bandeja foram semeadas em duas subamostras de 25 sementes por rolo de papel. As avaliações foram feitas no 15° e 30° dia após a semeadura.

Os valores de condutividade elétrica de cada semente, associados com a sua classificação (plântula normal, plântula anormal e semente morta), permitiram a elaboração de intervalos nos quais se enquadraram cada uma dessas três classes.

#### 3.5 - Delineamento Experimental

Foram utilizadas a análise descritiva unidimensional ("Box-plot"), a análise multivariada (análise de clusters), correlação, e o modelo logit (regressão logística) como técnicas estatísticas.

Construíram-se os gráficos de caixa, conhecidos como "Box-plots", considerando a condutividade em função dos fatores (Lote, Safra, Embebição e Tempo). A análise desses gráficos permitiu visualizar as observações discrepantes, bem como a variabilidade da condutividade em função dos fatores em estudo. Um outro aspecto da utilidade destes gráficos diante do experimento foi dado por comparar os resultados dos testes convencionais com os diferentes tempos de condutividade elétrica, de modo que, o diagrama de caixa para um determinado tempo que apresentasse mais semelhante aos testes convencionais, preliminarmente seria o tempo mais indicado (Bussab e Moretin, 1987).

Como critério para comparar os testes convencionais de germinação e tetrazólio com o teste de condutividade elétrica utilizou-se a comparação de cada teste convencional em conjunto com os diversos tempos em que foram avaliadas as condutividades. Para esse procedimento utilizou-se a técnica da análise de

clusters pelo método de K-médias, que propicia a identificação de grupos de sementes de pior e melhor qualidade (Mc Cullogh e Neldy, 1989).

**Y** 9

Com base nos padrões de comercialização de sementes de café (70% de germinação), foi elaborada a expressão da probabilidade de a semente ser comercializável ou não, de acordo com sua condutividade elétrica avaliada após 96h de embebição, e com a safra. Na determinação do ponto de partição, as porcentagens foram ajustadas seguindo a distribuição binomial com função ligadora logit, para um preditor linear  $\mu = \beta_0 + \beta_1 x$  (regressão logística).

O ajuste de tais modelos generalizados está revisto amplamente em Mc Culllogh e Neldv (1989). Para o conjunto de dados considerado, utilizou-se o software R-1.7.1 (Ihaka e Gentleman, 1996).

Usou-se a distribuição de Bernoulli, um modelo estatístico em função da condutividade elétrica, de modo que sua probabilidade represente um "índice avaliador de qualidade". Calculou-se a probabilidade de comercialização dos lotes de sementes da safras 2001 e 2002 separadamente, de acordo com os valores de condutividade elétrica que apresentassem

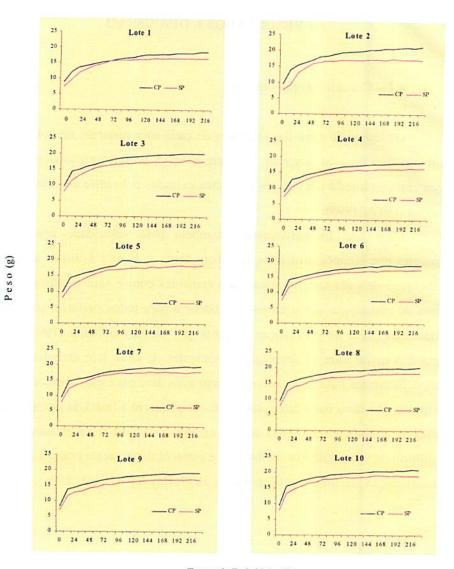
# 

# 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 - Caracterização dos lotes

Os teores de água das sementes de cada lote variaram de 9,4 a 10,4%, portanto com uma diferença de 1% entre lotes. A uniformização dos teores de água entre os lotes é um dos pré-requisitos exigidos pelo teste de condutividade elétrica (ISTA, 1995).

Cada lote foi caracterizado também pela velocidade com que as sementes que compõem os lotes embebem água. A Figura 1 ilustra a curva de embebição de cada um dos lotes, para sementes com e sem o pergaminho. A curva de embebição segue a mesma tendência para todos os lotes, conforme o modelo da curva de germinação proposto por Bewley e Black (1994). O que varia é a quantidade de água que as sementes de cada lote embebem com o tempo. Sementes mais vigorosas embebem mais devagar e em menor velocidade do que as sementes mais deterioradas até completarem a fase I da germinação. O ponto de estabilidade da curva marca, no início da fase II da germinação, um equilíbrio de trocas entre os meios intra e extracelulares; neste ponto a lixiviação e a embebição são máximas (Poppinigis, 1977; Bewley e Black, 1994).



Tempo de Embebição (h)

FIGURA 1 – Curvas de embebição das sementes de café dos 10 lotes com e sem o pergaminho, baseadas no ganho de peso (g) em água ao longo do tempo (h). UFLA, Lavras-MG 2002

Observaram-se variações dos pontos de estabilidade das curvas tiveram bastante variação entre lotes, assim como entre os métodos de embebição dentro de cada lote, e entre as sementes que embeberam com e sem pergaminho. Lotes mais vigorosos embebem em menor velocidade, pois os sistemas de membranas readquirem a capacidade de permeabilidade seletiva com maior rapidez, sendo então capazes de selecionar e controlar a entrada e saída de substâncias para o interior da célula. Os lotes menos vigorosos embebem maior quantidade de água e numa velocidade maior (Poppinigis, 1977; Carvalho, 1997). Com isso, a perda de eletrólitos varia na mesma proporção, graças ao alto nível de deterioração, e conseqüentemente ao maior tempo requerido para reconstituição do sistema seletivo de membranas (Desai et al., 1997; Krzyzanowski et al., 1999; Rosa et al., 2000). Esse comportamento foi de modo geral observado nos resultados obtidos.

Foi estipulado o tempo de 72 horas como um valor médio de estabilidade da curva, e mais quatro valores (24, 48, 96 e 120h), que foram testados para determinação do melhor tempo de embebição para as sementes de café. Em sementes que embeberam em água, Lima (1999) observou que a fase I se completou com aproximadamente 2 e 4 dias (48 e 96h), em sementes sem pergaminho e com o pergaminho, respectivamente. Segundo Camargo (1998), a fase I estava completa com aproximadamente 6 dias de embebição (144h), para sementes com e sem o pergaminho.

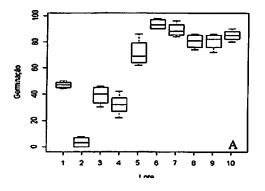
Os resultados dos testes convencionais de avaliação da qualidade fisiológica das sementes, o teste de germinação e o teste de tetrazólio podem ser observados na Figura 2. A comparação de médias entre os lotes pode ser observada na Tabela 2.

TABELA 2 - Resultados médios (%) dos testes de germinação e tetrazólio dos 10 lotes de sementes de café. UFLA, Lavras-MG, 2002.

Lotes	Teste de Germinação	Teste de Tetrazólio
6	94.0 a	82.0 a
7	89.0 a	88.0 a
10	85.0 a	87.0 a
9	81.0 Ь	66.0 b
8	81.0 b	62.0 b
5	72.0 b	90.0 a
1	47.0 c	47.0 c
3	39.0 d	35.0 d
4	32.0 d	20.0 e
2	4.0 e	11.0 e

Teste de Scott-Knott

CV: 11,68%.



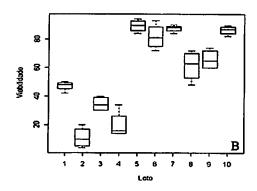


FIGURA 2 – Análise de box-plot para os testes de germinação (A) e de tetrazólio (B) para os 10 lotes de sementes de café. UFLA, Lavras-MG, 2002.

Pelos resultados dos testes de germinação e de tetrazólio, os lotes 6, 7 e 10 foram classificados como os de melhor qualidade fisiológica, e os lotes 2, 3 e 4 os de qualidade inferior. O lote 5 se enquadra entre os melhores pelo teste de tetrazólio, o que não ocorreu para o teste de germinação. A alta viabilidade desse lote associada a uma germinação bem mais baixa se deve provavelmente à alta incidência de fungos. A presença desses fungos foi notada durante a avaliação do teste de germinação, mas não detectada pelo teste de tetrazólio. A ação dos fungos contribuindo no baixo índice de germinação foi comprovada pelo alto percentual de plântulas anormais (Krzyzanowski et al., 1999). Os lotes 1, 5, 8 e 9 foram classificados como os de qualidade fisiológica intermediária.

#### 4.2 - Condutividade Elétrica

A análise desses gráficos "Box-plot", considerando a condutividade elétrica individual e de massa, permitiu visualizar as observações discrepantes, a variabilidade da condutividade em função dos fatores em estudo. Nas comparações dos gráficos foi de comparar os resultados dos testes convencionais com os diferentes tempos de condutividade elétrica, de modo que o diagrama de caixa para um determinado tempo que se apresentasse mais semelhante aos testes convencionais seria o tempo mais indicado.

### 4.2.1 - Condutividade Elétrica de Massa

A condutividade elétrica de massa foi avaliada em amostras de sementes com e sem o pergaminho dentro de cada lote. A Figura 3 ilustra a variação da condutividade elétrica de massa dentro de cada lote, e paralelamente exibe os

valores de condutividade para sementes com e sem o pergaminho separadamente.

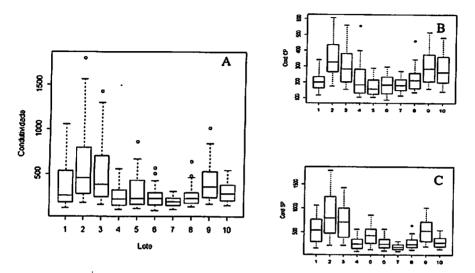


FIGURA 3 – Análise de box-plot para os resultados médios de condutividade elétrica de massa (μS/cm) de cada lote para sementes com e sem o pergaminho (A), e para sementes com (B) e sem o pergaminho (C) separadamente. UFLA, Lavras-MG, 2002.

Como pode ser observado, os mais altos valores de condutividade elétrica referem-se aos lote 2 e 3, classificados pelos testes de germinação e tetrazólio como os de pior qualidade fisiológica. Os valores de condutividade dos lotes 6, 7 e 10 confirmam também os resultados obtidos pelos testes de germinação e tetrazólio, nos quais foram classificados como os de melhor qualidade fisiológica. O valor mínimo de condutividade observado no lote 2 foi de aproximadamente 250µS/cm, enquanto que esse mesmo valor foi o máximo atingido pelas sementes dos lotes 6 e 7.

Quando as sementes embebem sem o pergaminho os valores da condutividade elétrica de todos os lotes são superiores, quando comparados aos das sementes embebidas com o pergaminho, atingindo valores máximos de 1250 e 450µS/cm, respectivamente (Figura 4). Lima (1999) constatou que a presença do endocarpo diminuiu a absorção de água, em comparação com as sementes sem endocarpo. O pergaminho atua como barreira física à passagem de água para a semente, levando a crer que também é uma barreira à passagem de eletrólitos da semente ao meio externo.O pergaminho é constituído por hemiceluloses com função de reserva (Guimarães et al., 2002), que não são facilmente hidrolisáveis. Portanto, a quantidade de solutos que atravessa o pergaminho não varia muito com o nível de qualidade fisiológica da semente. O que varia, na verdade, é a quantidade de solutos que sai da semente e fica retida no espaço existente entre a semente e o pergaminho. Por esse motivo é que as sementes que embebem sem o pergaminho retrataram de modo mais nítido a qualidade fisiológica do lote a que pertencem, mostrando maior variabilidade entre lotes e maiores valores de condutividade elétrica para lotes de pior qualidade.

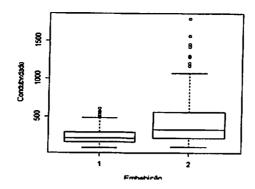


FIGURA 4 - Análise de box-plot para os resultados médios de condutividade elétrica de massa (μS/cm) para sementes com (1) e sem (2) o pergaminho. UFLA, Lavras-MG, 2002

Ao serem agrupados em safras, os lotes mais antigos mais uma vez representam o grupo de maior variabilidade entre os seus resultados, e também o grupo no qual houve maior índice de ocorrência de "outliers" (valores muito discrepantes). Confirma-se também a hipótese de atuação do pergaminho como barreira física à passagem de eletrólitos. Pelos resultados da Figura 5 comprovase essa afirmação, na qual principalmente para a safra de 2002 ocorre menor variabilidade dos valores de condutividade quando se retira o pergaminho das sementes, o que interfere na diferenciação de lotes Para ambas as safras, os valores de condutividade elétrica são visivelmente menores quando se avaliam sementes com a presença do pergaminho. Portanto, independente da safra, a permeabilidade do pergaminho aos eletrólitos é praticamente a mesma.

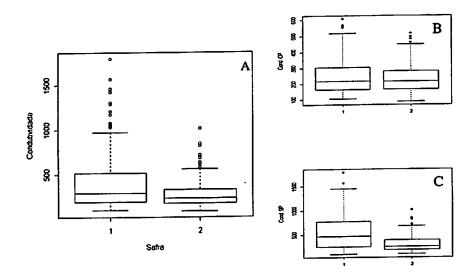


FIGURA 5 - Análise de box-plot para condutividade elétrica de massa (μS/cm), nas safras de 2001 (1) e de 2002 (2), para sementes com e sem o pergaminho (A) e para sementes com (B) e sem (C) o pergaminho separadamente. UFLA, Lavras-MG, 2002.

Pelos resultados da Figura 6 nota-se que a variação da condutividade elétrica e do número de dados discrepantes, em todos os lotes, foi variável em função do tempo de embebição. Observa-se que nas primeiras 24h de embebição a variação e o número de dados discrepantes ("outliers") foram menores em relação aos demais tempos de embebição.

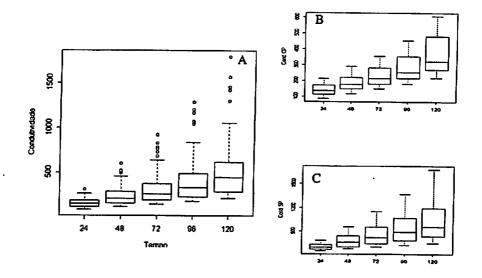


FIGURA 6 - Análise de box-plot para a condutividade elétrica de massa (μS/cm) dos lotes de sementes de café em cada tempo de avaliação (h). UFLA, Lavras-MG, 2002.

Durante o processo de embebição, as sementes começam processo de reestruturação do sistema de membranas, que demanda maior tempo quanto mais deteriorado ele estiver. O processo inicial de embebição é igual para sementes de diferentes níveis de qualidade fisiológica, que embebem água e lixiviam eletrólitos para o meio externo até a completa reestruturação e recuperação da permeabilidade seletiva (AOSA, 1983; Vieira, 1994; Penariol, 1997; Rosa et al., 2000). O aumento na variabilidade dos resultados pode ser explicado pela maior ou menor capacidade de reorganização das membranas. No início o processo é o mesmo, porém sementes mais deterioradas continuam a embebição e lixiviação até a completa reorganização, e sementes menos deterioradas finalizam esse processo rapidamente. Têm-se então valores superiores de condutividade elétrica, ou seja, da quantidade de eletrólitos liberados ao meio de embebição.

Embebendo sem pergaminho, a variação ao longo do tempo aumenta em virtude da maior distinção entre lotes em diferentes níveis de qualidade. Com o pergaminho, a distinção entre lotes é bem menor de um intervalo de tempo a outro. A mesma comparação feita no caso da safra é feita no caso do tempo. Quando embebem com pergaminho, a distinção entre lotes torna-se menos nítida, pois as quantidades de água que entram e de eletrólitos que atravessam o pergaminho sofrem pouca variação.

#### 4.2.2 - Condutividade Elétrica Individual

A condutividade elétrica individual foi também avaliada em amostras de sementes com e sem o pergaminho dentro de cada lote. A Figura 7 ilustra os valores de condutividade elétrica individual para cada lote, e também esses mesmos valores para sementes com e sem o pergaminho separadamente. Os lotes de pior vigor foram o 2, 3 e 4, confirmando os resultados dos testes de germinação e tetrazólio, e os resultados da condutividade de massa. O mesmo ocorreu para os lotes de melhor qualidade (6, 7 e 10). Apenas o lote 8, classificado como intermediário pela germinação e tetrazólio, mostrou-se similar aos melhores lotes pelo teste de condutividade elétrica individual.

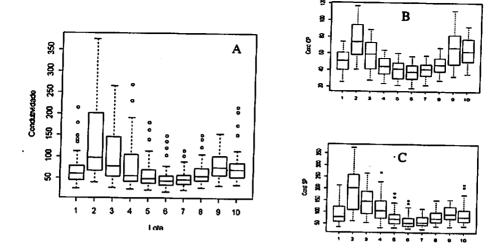


FIGURA 7 – Análise de box-plot para os resultados médios de condutividade elétrica de individual (μS/cm) de cada lote para sementes com e sem o pergaminho (A), e para sementes com (B) e sem o pergaminho (C) separadamente. UFLA, Lavras-MG, 2002.

Os valores da condutividade elétrica das sementes que embebem sem o pergaminho são bem maiores em todos os lotes, em relação à embebição das sementes com o pergaminho, e atingem valores máximos de 250 e 90µS/cm, respectivamente (Figura 8). O pergaminho atua como barreira física à passagem de água e eletrólitos, como foi comentado para o método de condutividade de massa. A quantidade de solutos que atravessa o pergaminho não varia muito com o nível de qualidade fisiológica da semente, impedindo que o teste realizado com as sementes com pergaminho revele a real qualidade fisiológica do lote.

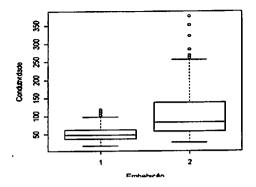


FIGURA 8 - Análise de box-plot para os resultados médios de condutividade elétrica individual (μS/cm) para sementes com (1) e sem (2) o pergaminho. UFLA, Lavras-MG, 2002.

Os resultados foram analisados quando agrupados em safras. Na safra mais antiga ocorreu maior variabilidade entre os resultados, e também houve maior presença de "outliers" (valores muito discrepantes). Comprova-se novamente a hipótese de atuação do pergaminho como barreira física à passagem de eletrólitos e água. Esses resultados confirmam a afirmação de alguns autores (Bewley, 1986; Carvalho, 1997; Desai et al., 1997; Krzyzanowski et al., 1999) de que o processo de deterioração começa com a perda da permeabilidade seletiva de membranas e avança durante o armazenamento, permitindo que os processos que sucedem a perda da permeabilidade ocorram numa velocidade proporcional ao vigor do lote. Pelos resultados ilustrados na Figura 9, ocorre uma redução mais brusca na variabilidade dos resultados quando se retira o pergaminho das sementes, principalmente na safra 2002. Os valores de condutividade elétrica são muito menores quando se avaliam sementes que embeberam com o pergaminho (máximo de 65µS/cm nas sementes com pergaminho e de 170µS/cm nas sementes sem pergaminho). Sendo de safras de sementes submetidas ou não ao armazenamento, a permeabilidade do pergaminho não variou. É interessante considerar que as sementes foram mantidas durante o armazenamento em condições de câmara fria. Vieira et al., (2001) afirmam que para sementes de soja o teste de condutividade elétrica não separa os lotes em níveis de qualidade diferentes, uma vez que à temperatura de 10°C os danos às membranas não ocorrem na mesma intensidade que no armazenamento à temperatura de 20-25°C.

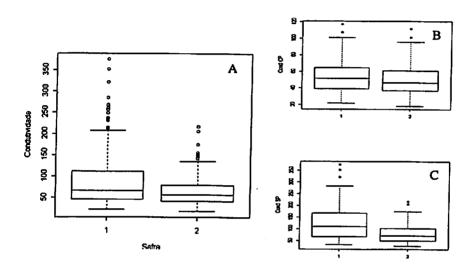


FIGURA 9 - Análise de box-plot para condutividade elétrica individual (μS/cm), nas safras de 2001 (1) e de 2002 (2), para sementes com e sem o pergaminho (A) e para sementes com (B) e sem (C) o pergaminho separadamente. UFLA, Lavras-MG, 2002.

A variação da condutividade elétrica em relação ao tempo de embebição, no método individual, é apresentada pela Figura 10. A variabilidade nos resultados e o número de "outliers" aumentam com o tempo de embebição.

A maior variabilidade no decorrer do tempo é explicada pelo processo de embebição das sementes. O processo inicial de embebição é o mesmo para todas as sementes, independente do nível de qualidade fisiológica a que pertencem. As sementes começam processo de reestruturação do sistema de membranas, que demanda maior tempo quanto mais deteriorado ele estiver. No final do processo, sementes deterioradas ainda embebem e lixiviam até a total reorganização, e sementes de melhor qualidade finalizam o processo rapidamente. A quantidade de eletrólitos lixiviados por sementes armazenadas é bem superior àquela lixiviada por sementes mais novas.

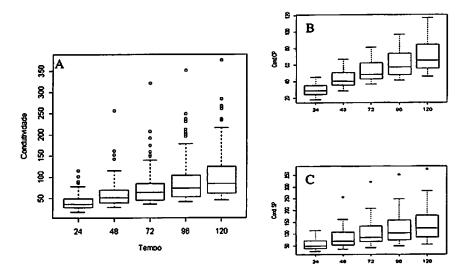


FIGURA 10 - Análise de box-plot para a condutividade elétrica individual (μS/cm) dos lotes de sementes de café em cada tempo de avaliação (h), em sementes com e sem pergaminho (A), e com (B) e sem (C) o pergaminho separadamente. UFLA, Lavras-MG, 2002.

Em sementes que embeberam sem o pergaminho, a variação ao longo do tempo aumenta levando à maior diferenciação entre lotes em diferentes níveis de

qualidade. Embebendo com o pergaminho, a diferenciação entre lotes é bem menor entre uma avaliação e outra.

Todas as figuras ilustram também a diferença de valores de condutividade elétrica existente entre os métodos de massa e o individual e também entre as condições de embebição — com ou sem o pergaminho. A diferença entre os métodos é devida às quantidades diferentes de água em que as sementes são embebidas em cada um dos métodos.

Na Tabela 3 apresentam-se os grupos formados para os testes de condutividade elétrica individual e de massa com e sem pergaminho, para todos os tempos de embebição, e para os testes convencionais de germinação e tetrazólio. Na comparação do percentual de pares concordantes de cada tempo em relação aos testes tradicionais, os melhores resultados (maior percentual de acerto) são obtidos pelo teste de condutividade elétrica individual de sementes sem o pergaminho. Os melhores tempos de embebição são de 96 e 120h, com um percentual de concordância de 85 e 90%, respectivamente, em relação aos testes convencionais de avaliação da qualidade.

condutividade elétrica individual e de massa, em sementes com e sem pergaminho, nos 5 tempos de embebição avaliados. (10 lotes X 4 repetições = 40 observações). UFLA, Lavras-MG, 2003. TABELA 3 - Classificação das amostras de sementes em relação aos testes convencionais e aos testes de

		120h	-	~	ଧ	8	7	8	7	~	8	~	8	N	-	-	-	-	-	0	-	-
	inho	96h	1	α.	.0	7	0	N	N	8	8	8	8	7	-	-	-	-	<del>-</del>	8	<del>-</del>	•
ssa	Sem Pergaminho	72h	1	N	8	0	N	8	8	α	8	7	8	8	-	-	-	-	<del>-</del>	N	-	-
da Ma	Sem F	48h	-	-	8	7	~	8	8	~	8	ผ	8	8	<b></b>	-	-	-	-	7	0	-
Teste de Condutividade de Massa		24h	-	-	~	~	0	8	ä	~	0	~	8	7	-	-	-	-	-	N	N	-
duti		ا <b>ب</b>																				
ပ္သ		120F	2	N	8	8	_	_	_	_	_	_	_	_	_	8	N	N	N	8	N	0
ste d	ninho	<del>96</del> h	2	~	8	N	<del>,-</del>	-	-	-	-	-	-	-	-	7	~	~	0	N	N	N
Ψ	Com pergaminho	72h	2	8	2	7	-	<b>,</b>	-	-	-	-	-	_	-	8	7	8	7	~	N	CV
	d wo	48h	2	~	8	~	_	_	_	_	_	~	_	_	_	~	~	~	~	8	ત	~
	3		_	_	_		_	_	_	_	_	_	_	<b>-</b>	<b>,</b> -	_	_	_	_	_	<b></b>	_
		120h 24h	_	N	N	'n	_	_	_	_	_	_	_	<del>-</del>	_	_	8	N	_	7	CV	~
	슏	96h 1	_	a	a	~	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	~	œ	_	~	0	N
	gamir	72h 9		۵.	•	•	_		_		_	_	_	_	_	_	~	~	_	٠.	a	a
vidual	Sem Pergaminho				•	••	•		•	•	•	•		•			••				•	
Ę		48h		N	~	N	_	_	_	_	~	_	~	8	_	~	~	~	_	N	N	N
ridad		2 <del>4</del> h	┝	~	~	~	-	•	-	_	-	-	8	~	-	~	~	~	_	8	8	8
Teste de Condutividade Individual		120h	_	~	a	c.	_	_	_	_	_	_	_	_	~	8	~	~	2	N	ત્ય	Q,
රිම	욛			••	-																	
ste c	Com Pergaminho	496 1	2	8	2	N	_	_	-	_	Ψ-	_	_	_	~	~	N	~	8	8	~	N
۳	Perg	5	-	~	N	N	-	-	-	-	-	-	-	-	~	~	ત	~	N	N	0	N
	S	<del>8</del>	~	~	R	8	-	-	-	-	_	-	8	N	~	~	~	7	0	N	0	N
		24h	-	8	8	_	-	-	_	-	<b>-</b>	<b>,-</b>	<b>-</b> -	8	8	8	7	8	N	N	0	8
		⊢	L	_	_	_	_		-	_	_	_	_	_	_	<b>,</b>	_	_	cu.	~	Q	Q.
	Testes	၂	Ĺ	_	,_	_	·	-	_	·	_	_	·	_	_	<b>,</b>	_	_	N	ر در	o.	0
		Obs. 1	-	0	n	4	ري د	ဖ	_	ω	6	9	Ξ	7	<del>1</del> 3	4	15	9	1	18	6	8
I		_	J																			

-	• •						• •		- +-		- +	۰ ،	4 6	40	۰,		- +			-	22.5
-	-			-	-		-		-	. ,-		۰ ،	10	J <del>-</del>				- +	٠.	-	22.5
-	-		-		٠,		-		٠,-	-	-	۰ ،	10	۰ -		٠,			٠.	-	22.5
-	<b>,</b>	-	٠ ،	۰	-		-		· •		-	۰ ۵	10	ı —	-	-			٠.	-	32.5
<b>-</b>	-	-		·	-	-	-	-	-	-	~	۱۵	ه ا	۱ ۵	۱۵	ı <del>-</del>	-			$\cdot$	37,5
N	8	٥ ا	۱۵	۱ م	۸	ا م ا	N	0	2	N	<del>-</del>	-	-	-	~	-	_	-	-	1	62,5
8	8	Ν.	N	N	N	N	~	8	N	8	<del>,</del>	-	-	-	_	-	-	-	-		B
N	N	N	N	N	8	N	N	~	N	~	<b>-</b>	-	-	-	_	-	-	-	~		æ
c۷	N	~	N	N	2	N	8	N	0	N	_	_	_	_	_	_	_	~~	, <del></del>		8
-	_	_	-	_	-	-	_	_	-	_	_	_	_	_	_	<b>—</b>	_	_		•	
Q	0	8	8	~	N	~	Q	8	cv	~	8	8	0	N	0	<b>-</b>	~	N	N		8
_	۰.	۸.	۰.	CI.	۰.	٥.	٥.		cu.	•	٥.	_		۰.	•	_	۰.	N			88
_	••	•		.,	•		•	•	.,	.,	.,	_	•	•	.,	_	.,				
_	~	N	N	N	N	8	N	_	N	N	N	_	_	7	8	_	N	N	8		8
-	N	N	N	N	N	N	N	-	N	N	N	_	-	N	N	-	œ	Q	N		67,5
-	N	N	0	0	N	N	N	-	0	8	~	-	-	N	N	-	0	N	8		75
N	N	N	N	N	N	0	N	8	N	N	N	_	_	_	_	-	N	_	_	1	8
Q	~	N	N	~	~	N	8	~	~	N	N	-	<del>-</del>	-	-	-	୯	-	-		8
N	N	~	Q	~	~	N	~	-	~	N	N	<del>-</del>	-	-	-	-	<b>-</b>	-	-		ន
N	N	~	N	N	N	N	ત	_	N	N	N	-	-	-	<del>-</del>	<b>-</b>	<del>-</del>	-	-		ន
cv	CJ	ત્ય	Q	0	٥	N	Q	_	N	N	N	_	-	_	_	_	_	-	<del>-</del>		8
																				<u>,</u>	
N				8	-													~		ğ	
CV	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	ત	N	N	N	N	N	0	N	N	န္ကြ	
2	ដ	83	54	22	<b>5</b> 0	27	<b>58</b>	8	ଚ୍ଚ	မ	32	8	첧	35	36	37	38	ဓ္ဌ	<del>\$</del>	% \	

Para uma confirmação da análise de k-médias, estimou-se a correlação residual entre os testes convencionais e cada um dos tempos de embebição. Pelo modelo multivariado de Wilk's, Lawley-Hoteling, Pillai's e Roy's foram testadas a significância para a procedência, safra e tempo. Os quatro critérios mostraramse significativos para os três fatores em estudo; portanto, conclui-se que o tempo, o fator de maior interesse para o experimento, apresenta condutividades diferenciadas.

Graças à essa significância entre os tempos, estimou-se a correlação residual entre os tempos de embebição e os testes convencionais.

Os teste convencionais de germinação e tetrazólio têm sentidos opostos aos testes de condutividade. Portanto, considerando-se a maior correlação negativa com os testes convencionais indica resultados semelhantes quanto à classificação das sementes. Observando a Tabela 6, nota-se que as maiores correlações negativas significativas foram obtidas no teste de condutividade elétrica individual, para sementes sem pergaminho, e com tempo de embebição de 96 e 120 horas. Com esses resultados confirmam-se os resultados da análise de k-médias.

TABELA 4 - Correlações residuais entre os testes convencionais e os testes de condutividade nos 5 tempos de embebição, e em sementes com (CP) e sem pergaminho (SP). UFLA, Lavras-MG, 2003.

	Conc	lutivida	de Individua	1	Condutividade de Massa			
	Germinação		Tetrazólio		Germinação		Tetrazólio	
Tempo	Correlação	p valor	Correlação	p valor	Correlação	P valor	Correlação	p valor
24h cp	-0,157	0,335	0,0347	0,832	0,0679	0,677	-0,1186	0,466
48h cp	-0,007	0,967	0,1622	0,317	0,1242	0,445	-0,0495	0,762
72h cp	0,0553	0,735	0,2129	0,187	0,1457	0,37	-0,0533	0,744
96h cp	0,1117	0,493	0,1775	0,273	0,1549	0,34	0,0153	0,926
120h cp	0,0582	0,721	0,2049	0,205	0,1126	0,489	0,1404	0,388
24h sp	0,0057	0,972	-0,3211	0,043	0,0969	0,552	0,1432	0,378
48h sp	-0,108	0,506	-0,3272	0,039	0,0922	0,571	-0,04	0,807
72h sp	-0,141	0,387	-0,3156	0,047	0,136	0,403	-0,0364	0,824
96h sp	-0,096	0,556	-0,352	0,026	0,1617	0,319	0,0117	0,943
120h sp	<u>-0,</u> 089	0,584	-0,3452	0,029	0,1753	0,279	0,0307	0,851

A análise de clusters mostra que o tempo de 96h apresentou o maior número de pares concordantes, considerando sementes sem o pergaminho, os pontos de estabilização das curvas de embebição, a maior variabilidade entre os resultados fornecidos pelas sementes sem pergaminho, e a análise de correlação. Dessa forma, o tempo de 96h apresentou-se como o tempo médio ideal para avaliação do vigor em lotes de sementes de café da cultivar Acaiá sem pergaminho, e que pelo teste de condutividade individual produzem-se resultados semelhantes aos dos testes convencionais.

## 4.3 - Determinação do Ponto de Partição

As sementes foram submetidas ao teste de condutividade elétrica individual após embeberem por 96h, sem o pergaminho. Quando se retira o pergaminho, resquícios de película prateada (espermoderma) ficam aderidos ainda na semente.

A análise dos gráficos "Box-plot" permitiu visualizar as observações discrepantes, bem como, a variabilidade da condutividade em função dos fatores em estudo.

Os resultados estão ilustrados na Figura 11, e classificam os lotes 2, 3 e 4 como os de qualidade inferior, e os lotes 6, 7, 8, 10 como os de melhor qualidade.

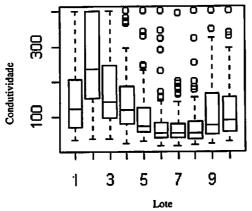


FIGURA 11 - Análise de box-plot para os resultados médios de condutividade elétrica de individual (μS/cm) de cada lote para sementes sem o pergaminho. UFLA, Lavras-MG 2003

Imediatamente após a leitura, o valor de condutividade elétrica de cada semente foi identificado, e as mesmas sementes foram submetidas ao teste de germinação (Brasil, 1992). Após a segunda leitura do teste, cada semente foi classificada de acordo com o tipo de estrutura a que deu origem: Plântula Normal, Plântula Anormal ou Semente Morta (Figura 12).

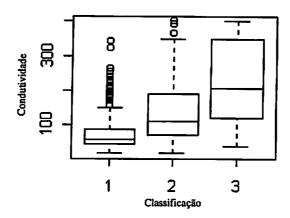


FIGURA 12 - Análise de box-plot para condutividade elétrica individual (μS/cm) nas diferentes classificações (Plântula Normal (1), Anormal (2) e Semente Morta (3)) para todos os lotes. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Observa-se que as sementes que originaram plântulas normais possuem menores valores de condutividade elétrica e pequena variabilidade. A classe de sementes, mortas, por sua vez, apresenta uma alta variabilidade e valores de condutividade elétrica bastante altos. Considerando-se a germinação média observada nos lotes, ou seja, o número de plântulas normais, o ponto de partição está em torno de 90µS/cm, de acordo coma Figura12.



A alta variabilidade da classe de sementes mortas se deve também à presença de muitas sementes que, apesar de mortas, exibiram valores de condutividade muito baixos. A grande maioria das sementes mortas encontrava-se infeccionada por fungos, e uma minoria apresentava apenas o embrião deteriorado. Segundo Mantovaneli (2001), quando a deterioração dos tecidos é vista externamente à semente, significa que o processo já está num estádio muito avançado. Isso ocorre porque os fungos de campo e de armazenamento podem promover uma deterioração quase total nas sementes, e cascas e tegumentos são deteriorados bem no final do processo. Sementes com baixas condutividades e que originaram plântulas anormais também foram encontradas, provavelmente em razão da infecção causada pelos fungos.

Sementes que apresentaram condutividade alta também originaram plântulas normais. Isso ocorreu principalmente em lotes da última safra, ou seja, os de maior qualidade fisiológica, e pode ter sido atribuído à presença de danos mecânicos na semente, que não afetaram o embrião, associada ao maior potencial de viabilidade e de germinação dos lotes que compõem a safra 2. Deve-se lembrar que a retirada do pergaminho deve ser feita manualmente, pois vários autores alertam para o fato de que a retirada mecânica causa danos mecânicos à semente, e por muitas vezes, danos que afetarão o embrião (Dietrich, 1986; Guimarães, 1995).

Estudando a condutividade elétrica individual em sementes de soja, Hamman et al., (2001) notou que muitas sementes que germinaram tinham a mesma condutividade das sementes em todas as categorias das não germinadas. Por isso, afirma que informações sobre níveis de qualidade da semente, tiradas da medida de condutividade elétrica individual não podem ser usadas para predizer sua performance, havendo necessidade de associar os resultados com os do teste de germinação.

Os intervalos de valores de condutividade foram menores em se tratando de sementes de alta qualidade fisiológica (Figuras 11 e 13). Lotes mais vigorosos



agruparam valores num intervalo menor, assim como as plântulas normais para todos os lotes, e para a segunda safra.

A maior variabilidade ocorreu para o lote 2, como foi visto nos testes convencionais e nos dois métodos de condutividade elétrica, expostos na etapa de classificação dos lotes. A ocorrência de grande variabilidade para baixa qualidade fisiológica é confirmada pelo grande intervalo de valores da safra 1. Na safra 2 observa-se um número grande de valores discrepantes.

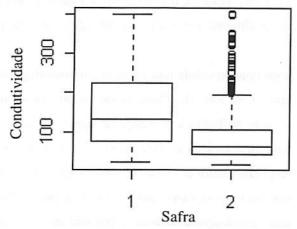


FIGURA 13 – Análise de box-plot para a condutividade elétrica individual (μS/cm) nas diferentes safras de 2001 (1) e de 2002 (2). UFLA, Lavras-MG, 2003.

De acordo com o interesse do experimento, a resposta pôde ser dada em uma escala discreta, como uma resposta binária caracterizando sucesso ou fracasso. Podese considerar a semente comercializável ou não, em virtude de a resposta ser binária. Aplicam-se modelos generalizados, considerando a variável resposta como distribuição de Bernoulli. A classificação em plântula anormal ou semente morta,

considerando apenas o tempo e a condutividade é impossível, pois o modelo indicou a presença de superdispersão, não permitindo estabelecer um índice de classificação.

and the second s

Com base nos padrões de comercialização de sementes de café (70% de germinação), foi elaborada a expressão da probabilidade de a semente ser comercializável ou não, de acordo com sua condutividade elétrica avaliada após 96h de embebição, e com a safra. O modelo logístico generalizado para resposta binária de probabilidade neste experimento é dado por:

P(Comercial) = 
$$e^{\eta}/1 + e^{\eta}$$
 , onde:  $\eta = 0.780352 - 1.016091$ Cond. (Safra 1) 
$$\eta = 2.787866 - 0.016091$$
Cond. (Safra 2)

Na Tabela 5 apresenta-se um paralelo entre os testes convencionais de germinação e tetrazólio com os resultados da condutividade elétrica com 96h de embebição proposto pela regressão logística. Observa-se que a separação entre lotes com e sem a probabilidade de comercialização a uma condutividade de até 120,5μS/cm é semelhante aos testes convencionais. Lotes da safra de 2002 que possuem até 120,5μS/cm de condutividade, no geral, possuem 70% ou mais de potencial de germinação.

TABELA 5 – Probabilidade de comercialização de cada lote de sementes de café em relação aos padrões mínimos oficiais exigidos para os testes convencionais de germinação e tetrazólio, e em relação ao teste de condutividade elétrica individual com 96h de embebição. UFLA, Lavras-MG, 2003.

Lote	Testes Con	vencionais	Teste de Condutividade Elétrica				
Lote	Tetrazólio	Germin.	Condutividade Elétrica (96h)	Probab. Comercial.	Classificação (Safra 2)		
1	47	47	115,13	25,54	0		
2	3,5	11	251,71	3,67	0		
3	39	34,5	182,375	10,41	0		
4	32	20	149,675	16,44	0		
5	71,5	89,4	94,725	32,26	1		
6	93,5	81,79	73,175	83,37	1		
7	89	87,5	73,53	83,29	1		
8	80,5	61,5	93,32	78,38	1		
9	80,5	66	112,92	72,56	1		
10	85	86,35	112,685	72,64	1		

Os lotes da safra 2 foram classificados pela numeração binária como comercializáveis (1), e a menor probabilidade de comercialização entre eles foi para o lote 9, com 72,56%. Os lotes da safra 1, com exceção para o lote 5, foram classificados como não comercializáveis (0). O lote 5 foi classificado como comercializável, mas com uma probabilidade baixa de 32,26%, que se aproxima muito mais dos lotes não comercializáveis. Isso provavelmente foi reflexo da alta germinação do lote que, apesar de alta, não se correlaciona com o valor de condutividade elétrica alto. Lotes que apresentaram valores de germinação inferiores ao lote 5 mantiveram a condutividade elétrica num mesmo padrão, como no lote 8,

ou até mesmo inferiores, como nos lotes 6 e 7. A correlação obtida pelos testes convencionais e o teste de condutividade elétrica individual permitiu a obtenção da probabilidade de cada lote ser comercializável ou não.

O vigor avaliado pelo teste de condutividade elétrica foi correlacionado ao perfil exibido pelas sementes de cada lote após o teste de germinação (semente morta, plântula normal ou plântula anormal). Isso possibilitou também acompanhar a velocidade da evolução do processo de deterioração de cada semente individualmente e de cada lote, já que, segundo Delouche (1975), a deterioração da semente começa pela perda da permeabilidade seletiva das membranas celulares e termina com a perda do poder germinativo. Portanto, para a classificação das sementes comercializáveis ou não, foram analisados os processos inicial e final de deterioração e sua evolução. A possibilidade de comercializar o lote foi calculada em virtude dessa evolução, e principalmente do final do processo deteriorativo, constatado pela perda do poder germinativo ou pela morte da semente.

As curvas de probabilidades comerciais (Figura 14) para as safras 1 e 2 ilustram a maior probabilidade de se obterem sementes comercializáveis para cada valor de condutividade elétrica. Para uma germinação de 70% num lote de sementes de café da safra 2, o valor de condutividade será aproximadamente 120,5µS/cm.

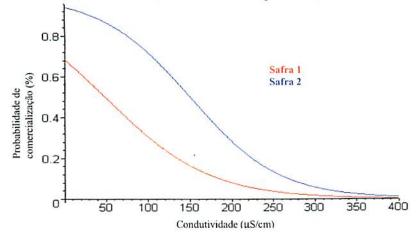


FIGURA 14 – Curvas de probabilidades comerciais para sementes de café das safras de 2001 (1) e de 2002 (2). UFLA, Lavras-MG, 2003.

## 5 - CONCLUSÕES

- Os testes de condutividade elétrica individual e de massa são eficientes na separação de lotes de sementes de café em diferentes níveis de qualidade fisiológica. O método individual foi mais eficiente em relação ao método de condutividade de massa;
- A análise das sementes sem o pergaminho permite uma separação nítida dos lotes de diferentes níveis de qualidade;
- O tempo de 96h de embebição é o ideal para a avaliação da qualidade de sementes de café sem pergaminho pelos testes de condutividade elétrica individual e de massa;
- O ponto de partição para o teste de condutividade elétrica individual, de sementes de café sem pergaminho é de aproximadamente 120,5μS/cm, para lotes de sementes recém-colhidas.

## 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELNOUR, A.; VILLALOBOS, V.; ENGELMANN, F. Cryopreservation of zygotic embryos of *Coffea spp*. Cryo-Letters, Cambridge, v. 13, n. 5, p. 297-302, Sept./Oct. 1992.

ABDUL-BAKI, A. A.; ANDERSON, J. D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWSKI, T. T. Seed Biology. New York, 1972. v. 2, p. 283-315.

ABDUL-BAKI, A. A.; BAKER, J. E. Are changes in cellular organelles or membranes related to vigor loss in seeds? Seed Science and Technology, Zurich, v. 1, n. 1, p. 89-125, 1973.

AFONSO JÚNIOR, P. C. Efeitos imediatos e latentes das condições de secagem sobre a qualidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), variedade "Ouro Negro 1992". 1996. 64 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

AMORIM, H. V.; CRUZ, A. R.; DIAS, R. M.; GUTIERREZ, S. E.; TEIXEIRA, A. A.; MELO, M.; OLIVEIRA, G. D. de. Transformações estruturais durante a deterioração de sementes de café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 5., 1977, Guarapari-ES. Resumos.... Rio de janeiro: IBC/GERCA, 1977. p. 15-18.

ANDRADE, R. N. B.; SANTOS, D. S. B.; SANTOS FILHO, B. G.; MELLO, V. D. C. Correlação entre testes de vigor em sementes de cenoura armazenadas por diferentes períodos. Pesquisa Agropecuária Gaúcha, Porto Alegre, v. 1, n. 2, p. 153-162, 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS - AOSA. Seed vigor testing handbook. AOSA, 1983. 93 p.

BARBEDO, C. J. Armazenamento de sementes de *Inga uruguensis* Hook & Arm. Piracicaba, 1997. 71 p.

BARRIOS BARRIOS, B. E. Caracterização física, química, microbiológica e sensorial de cafés (Coffea arabica L.) da região Alto Rio Grande – Sul de Minas Gerais. 2001. 72 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

- BARROS, A. S. R. Testes para avaliação rápida da viabilidade e do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merril). 1988. 140 p. Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- BASRA, A. S. Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications. New York, 1995. 389 p.
- BEDFORD, L. V. Conductivity tests in commercial and hand harvested seed of pea cultivars and their relation to field establishment. Seed Science & Technology, Zurich, v. 2, n. 2, p. 323-335, 1974.
- BERGAMASCHI, M. C. M. Comportamento de cultivares de soja (Glycine max (L.) Merril) quanto à qualidade fisiológica de sementes. Jaboticabal: FCAV/UNESP. 1992. 75p.
- BERKEY, D. A. Industry perspective of vigor testing. Journal Seed Technology, Lincoln, v. 17, n. 2, p. 127-133, 1993.
- BEWLEY, J. D. Membrane changes in seeds as related to germination and the perturbations resulting from deterioration storage. In: McDONALD JR., M. B.; NELSON, C. J. (Ed.). Physiology of seed deterioration. Madison: CSSA, 1986. p. 27-45.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. Seed physiology of development and germination. 2. ed. New York: Plenum press, 1994. 445 p.
- BILIA, D. A. C. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Inga uruguensis* Hook & Arm. Piracicaba-SP, 1997. 88 p.
- BILIA, D. A. C.; FANCELI, A. L.; MARCOS FILHO, J.; MACHADO, J. C. Comportamento de sementes de milho híbrido precoce e normal durante o armazenamento. 1992. 96 p. Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- BILIA, D. A. C.; FANCELI, A. L.; MARCOS FILHO, J.; MACHADO, J. C. Comportamento de sementes de milho híbrido durante o armazenamento sob condições variáveis de temperatura e umidade relativa do ar. Scientia Agricola, Piracicaba, v. 51, n. 1, p. 153-157, jan./abr. 1994.
- BRADNOCK, W. T.; MATTHEWS, S. Assessing field emergence potential of wrinkled-seeded peas. Horticultural Research, Edinburgh, v. 10, n. 50-58, 1970.

BRANDÃO JÚNIOR, D. S. Marcadores da tolerância à dessecação de sementes de cafeeiro. 2000. 144 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regras para análise de sementes. Brasília: SNDA – Departamento Nacional de Defesa Vegetal, CLAV, 1992. 365 p.

BRUGGINK, H.; URAAK, H. L.; DUKEMA, M. H. G. E.; BEKENDAM, J. Some factors influening electrolyte from maize (Zea mays L.) Kernels. Seed Science Research, Zurich, v. 1, n. 1, p. 15-20, Mar. 1991.

BURRIS, J. S. Physiological aspects of seed storability. In: ANNALS SEED TECHNOLOGY CONFERENCE, 6., 1983, Ames, Iowa. Proceedings... Ames, Oiwa, 1983. p. 25-36.

BUSSAB, W. O.; MORETIN, P. A. Estatística básica. 4. ed. São Paulo: Atual, 1987. 321 p.

CALIARI, M. F.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de ervilha (*Pisum sativum L*). Revista Brasileira de Semente, Brasília, v. 12, n. 3, p. 52-75, 1990.

CAMARGO, R. Condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro (Coffea arabica L.). 1998. 108 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CARVALHO, J. C. Testes fisiológicos e bioquímicos na avaliação da germinação e do vigor de sementes de soja. Viçosa: UFV, 1997. 56 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

CARVALHO, N. M. O conceito de vigor em sementes. In: VIEIRA, R. D; CARVALHO, N. M. Teste de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 1-30.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424 p.

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

COFFEE BUSINESS. Anuário Estatístico do Café, 2000/2001.

- COOLBEAR, P. Mechanisms of seed deterioration. In: BASRA, A. S. Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications. New York, 1995. Cap. 8, 389 p.
- COSTA, A. V.; SEDIYAMA, T.; SILVA, R. F. da; SEDIYAMA, C. S. Absorção de água pelas sementes de soja. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 3., Campinas, 1984. Anais... Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1984. p. 952-7.
- DELOUCHE, J. C. Pesquisa em sementes no Brasil. Brasília: AGIPLAN/MA, 1975. 69 p.
- DESAI, B. B.; KOTECHA, P. M.; SALUNKHE, D. K. Seeds Handbook. New York, 1997. 627 p.
- DEY, P. M.; HARBONE, J. B. Plant Biochemistry. London: Academic Press, 1997. 554 p.
- 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.) Merril). 1994. 136 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP
- DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Testes de vigor baseados na permeabilidade de membranas celulares: 1. Condutividade Elétrica. Informativo ABRATES, Londrina, v. 5, n. 1, p. 26-36, abr. 1995.
- ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behavior? I. Coffee. Journal of Experimental Botany, Oxford. v. 41, n. 230, p. 1167-117, Sept. 1990.
- FAGIOLI, M. Lixiviação de eletrólitos e condutividade elétrica da solução de embebição de sementes de milho. 2001. 62 p. Tese (Doutorado em Produção e Tecnologia de Sementes) Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, SP
- FAGIOLI, M. Relação entre a condutividade elétrica de sementes e a emergência de plântulas de milho em campo. 1997. 74 p. Dissertação (Mestrado em Produção e Tecnologia de Sementes) Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, SP
- FERGUSON, J. M. AOSA perspective of seed vigor testing. Journal of Seed Technology, Lincoln, v. 17, n. 2, p. 101-104, 1993.
- FERGUSON, J. M. Metabolic and biochemical changes during the early stages of soybean seed deterioration. Kentuchy: University of Kentuchy, 1988. 138 p.

- FICK, G. L.; HIBBARD, R. P. A method for determining seed viability by electrical conductivity measurements. Michigan Academy Science Arts and Letters, Ann Arbor, v. 5, p. 95-103, 1925.
- FRATIN, P. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (Zea mays L.). 1987. 191 p. Dissetação (Mestrado em Fitotecnia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- FRATTINI, N. Efeito do tamanho das sementes e de doses de fungicida na qualidade fisiológica das sementes do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). 1995. 93 p. Dissertação (Mestrado em Produção e Tecnologia de Sementes) Universidade Estadual de São Paulo. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinaria, Jaboticabal, SP.
- FREITAS, R. A. Testes para avaliação da qualidade de sementes de algodoeiro e suas relações com o potencial de armazenamento e emergência das plântulas em campo. 1999. 76 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- GIRANDA, R. N. Aspectos qualitativos de cafés submetidos a diferentes processos de secagem. 1998. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- GUIMARĀES, R. J.; MENDES, A. N. G.; SOUZA, C. A. S. Cafeicultura. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 317 p.
- GUIMARÃES, R. M. Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). 2000. 180 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- HALLOIN, J. M. Solute loss from deteriorated cotton seed: relationship between deterioration, seed moisture and solute loss. Crop Science, Madison, v. 15, n. 1, p. 11-15, Jan./Feb. 1975.
- HAMMAN, B.; HALMAJAN, H.; EGLI, D. B. Single seed conductivity and seedling emergence in soybean. Seed Science & Technology, Zurich, v. 29, p. 575-586, 2001.
- HAMPTON, J. G. Vigor testing within laboratories of the International Seed Testing Association: a survey. Seed Science & Technology, Zurich, v. 20, p. 199-203, 1992. Supplement, 1.

- HAMPTON, F. G.; COOLBEAR, P. Potencial versus actual seed performance. Can vigor testing provide an answer? Seed Science & Technology, Zurich, v. 18, n. 2, p. 215-228, 1990.
- HAMPTON, J. G.; JHONSTONE, K. A.; EUA-UMPON, V. Bulk conductivity test variables for mungbean, soybean, soybean and French bean seed lots. Seed Science and Technology, Zurich, v. 20, n. 3, p. 677-86, 1992.
- HAMPTON, J. G.; TEKRONY, B. M. Conductivity test. In: HAMPTON, J. C.; TEKRONY, B. M. Handbook of vigour test methods. 3. ed. Zurich: ISTA, 1995. p. 22-34.
- HERTER, U.; BURRIS, J. S. Evaluating drying injury on corn seed with a conductivity test. Seed Science and Technology, Zurich, v. 17, n. 3, p. 625-38, 1989.
- HARRISON, J. G.; PERRY, D. A. Studies on the mechanisms of barley seed deterioration. Annals Applied Biololgy, Cambridge, v. 84, n. 1, p. 57-62, Sept. 1976.
- HEYDECKER, W. Vigour. ln: ROBERTS, E. H. Viability of Seeds. London, 1972. p. 209-52.
- HIBBARD, R. P.; MILLER, E. V. Biochemical studies on seed viability. I. Measurements of conductance and reduction. Plant Physiology, Rockville, v. 3, p. 335-352, 1928.
- HONG, T. D.; ELLIS, R. H. Interespecific variation in seed storage behavior within two genera Coffea and Citrus. Seed Science and Technology, Zurich, v. 23, n. 1, p. 165-181, 1995.
- HOPPER, N. W.; HINTON, H. R. Electrical conductivity as a measure of planting seed quality in cotton. Agronomy Journal, London, v. 79, n. 1, p. 147-52, Jan./Feb. 1987.
- KRYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, F. B.; HENNING, A. A. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. Informativo ABRATES, Londrina, v. 1, n. 2, p. 15-50, mar. 1991.
- KRYZANOWSKI, F. C.; MIRANDA, Z. F. S. Relatório do comitê de vigor da ABRATES. Informativo ABRATES, Londrina, v. 1, n. 1, p. 7-25, dez. 1990.
- KRYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. 218 p.

- KUO, W. H. J. Delayed-permeability of soybean seeds: characteristics and screening methodology. Seed Science and Technology, Zurich, v. 17, n. 1, p. 131-142, 1989.
- LIMA, W. A. A. Condicionamento fisiológico, germinação e vigor de sementes de café (*Coffea arabica* L.). 1999. 69 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- LIN, S. S. Efeito do período de armazenamento na lixiviação eletrolítica dos solutos celulares e qualidade fisiológica da semente de milho (Zea mays L.) e feijão (Phaseolus vulgaris L.). Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 10, n. 3, p. 59-67, 1988.
- LOEFFLER, T. M. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. Lexington: University of Kentucky, 1981. 181 p.
- LOEFFLER, T. M.; TECRONY, D. M.; EGLI, D. B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, **Lansing**, v. 12, n. 1, p. 37-53, 1988.
- MANTOVANELI, M. C. H. Interferência de alguns fungos no teste de tetrazólio e de danos mecânicos, tratamento fungicida e do armazenamento na qualidade de sementes de milho (*Zea mays L.*). 2001. 173 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- MARCHI, J. L. Procedimentos para a condução do teste de condutividade elétrica para a avaliação do vigor de sementes de milho. 2001. 40 p. Dissertação (Mestrado em Produção e Tecnologia de sementes) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- MARCOS FILHO, J.; AMORIN, H. V.; SILVAROLLA, M. B.; PESCARIN, H. M. C. Relações entre germinação, vigor e permeabilidade das membranas celulares durante a maturação de sementes de soja. ln: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., 1981, Brasília, DF. Anais... Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1982. v. 1, p. 676-88.
- MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W. R. da. Avaliação da qualidade das sementes. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230 p.
- MARCOS FILHO, J.; SILVA, W. R. da; NOVEMBRE, A. D. C.; CHAMMA, H. M. C. P. Estudo comparativo de métodos para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes

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

MARTINS, C. C. Fontes de deterioração na produção de sementes de soja (Glycine max (L.) Merril) e respectivas anormalidades nas plântulas. 1993. 67 p. Dissertação (Mestrado em Produção e Tecnologia de Sementes) — Universidade Estadual de São Paulo. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinaria, Jaboticabal, SP.

MATTHEWS, S.; BRADNOCK, W. T. Relationship between seed exudation and field emergence in peas and french beans. Horticultural Research, Edinburg, v. 8, p. 89-93,1968.

MATTHEWS, S.; CARVER, M. F. F. Further studies on rapid seed exudate tests indicative of potential field emergence. Proceeding International of the Seed Test Association, Brunswick, v. 36, n. 2, p. 307-312, 1971.

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

MCCILHOGH, P.; NELDV, J. A. Generalized linear model. Ed. London: Chagan e Hill, 1989. 511 p.

Mc DONALD, M. B.; WILSON, D. O. An assessment of the standardization and ability of the ASA-610 to rapidly predict potential soybean germination. **Journal of Seed Technology**, 4(1): 1-11, 1979.

MENEZES, D. Determinação da curva de embebição e avaliação da qualidade fisiológica de sementes de algodão (Gossypium hirsutum L.). Lavras: UFLA, 1996. 57 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) — Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MINOHARA, L. Determinação do ponto de colheita em sementes de milho (Zea mays L.) através da linha de transformação em amido e camada preta. 1992. 51 p. Dissertação (Mestrado em Produção e Tecnologia de Sementes) — Universidade Estadual de São Paulo. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinaria, Jaboticabal, SP.

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

NASCIMENTO, W. M.; CICERO, S. M. Qualidade de sementes de ervilha tratadas com fungicida II. Qualidade fisiológica. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 13, n. 1, p. 13-19, 1991.

OLIVEIRA, M. A.; MATTHEWS, S.; POWELL, A. A. The role of split seed coats in determining seed vigour to commercial seed lots of soybean, as measured by the eletrical conductivity test. Seed Science and Technology, Zurich, v. 12, n. 2, p. 659-668, May/Aug. 1984.

PAIVA AGUERO, J. A. Correlação de condutividade elétrica e outros testes de vigor com emergência de plântulas de soja em campo. 1995. 92 p. Dissertação (Mestrado em Produção e tecnologia de sementes) - Universidade Estadual de São Paulo. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinaria, Jaboticabal, SP.

PANOBIANCO, M. Avaliação do potencial fisiológico em sementes de tomate. Piracicaba, 2000. 152 p.

PANOBIANCO, M. Variação na condutividade elétrica de sementes de diferentes genótipos de soja e relação com o conteúdo de lignina no tegumento. Jaboticabal, 1997. 59 p.

PENARIOL, A. L. Efeito do teor de água de sementes de soja sobre os resultados do teste de condutividade elétrica. 1997. 73 p. Dissertação (Mestrado em Produção e Tecnologia de Sementes) – Universidade Estadual de São Paulo. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinaria, Jaboticabal, SP.

PERRY, D. A.; HARRISON, J. G. The deleterious effect of water and low temperature on germination of pea seed. Journal of Experimental Botany, Oxford, v. 21, n. 67, p. 504-12, 1970.

Planoski, J. Avaliação da qualidade de sementes de girassol (*Helianthus annus* L.). Piracicaba, 2000. 52 p.

POPPINIGIS, F. Fisiologia da semente. Brasília: AGIPLAN, 1977. 289 p.

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

PRESLEY, J. T. Relation of protoplast permeability to cotton seed viability and predisposition to seedling disease. Plant Disease Report, St. Paul, v. 42, n. 7, p. 852, July 1958.

PRETE, C. E. C. Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (Coffea arabica L.) e sua relação com a qualidade da bebida. 1992. 125 p.

- RAGUS, L. Role of water absorbing capacity in soybean germination and seedling vigour. Seed Science and Technology, Zurich, v. 15, p. 285-296, 1987.
- RIBEIRO, D. M. C. A. Adequação do teste de condutividade elétrica de massa e individual para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). 1999. 116 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- ROSA, S. D. V. F.; VON PINHO, E. V. R.; VIEIRA, M. G. G. C.; VEIGA, R. D. Eficácia do teste de condutividade elétrica para uso em estudos de danos de secagem em sementes de milho. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 22, n. 1, p. 54-63, 2000.
- SÁ, M. E. de. Condutividade elétrica em sementes de tomate (*Lycopersicon lycopersicum L.*). Scientia Agricola, Piracicaba, v. 56, n. 1, p. 13-19, jan./mar. 1999.
- SANTOS, V. L. M. Avaliação da germinação e do vigor de sementes de genótipos de soja (*Glycine max* (L.) Merril), submetidas a stress salino e osmótico. 1994. 164 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- SATO, O. Efeito da seleção de espigas e da debulha na qualidade física e fisiológica das sementes de milho (Zea mays L.). 1991. 110 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- SCOTT, D. J.; CLOSE, R. C. An assessment of seed factors affecting field emergence of garden pea seed lots. Seed Science & Technology, Zurich, v. 4, n. 2, p. 287-300, 1976.
- SIMON, E. W.; MATHAVAN, S. The time-course of leakage from imbibing seeds of different species. Seed Science & Technology, Zurich, v. 14, n. 1, p. 9-13, 1986.
- SIMON, E. W.; RAJA HARUN, R. M. Leakage during seed imbibition. Journal of Experimental Botany, Oxford, v. 23, n. 77, p. 1076-85, 1972.
- TAO, J. K. Factors causing variations in the conductivity test for soybean seeds. Journal of Seed Technology, Lansing, v. 3, n. 1, p. 10-18, 1978.
- TAO, J. K. The 1978 referee test for soybean and corn. AOSA Newsletter, Brunswick, v. 32, n. 4, p. 43-66, Nov. 1978.
- TAO, J. K. The 1980 referee test for soybean and corn. AOSA Newsletter, Brunswick, v. 54, n. 3, p. 53-68, Sept. 1980.

- TEKRONY, D. M. Seed vigor testing 1982. Journal of Seed Technology, Lansing, v. 8, n. 1, p. 55-60, 1983.
- VAZQUEZ, G. H. Condicionamento fisiológico de sementes de soja: efeitos sobre a germinação, vigor e potencial de armazenamento. 1995. 138 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- VIEIRA, E. C.; GAZZINELLI, G.; MARES GUIA, M. Bioquímica celular e biologia molecular. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1991. 360 p.
- VIEIRA, M. G. G. C.; GUIMARÃES, R. M.; VON PINHO, E. V. R.; GUIMARÃES, R. J.; OLIVEIRA, J. A. Testes rápidos para a determinação da viabilidade e da incidência de danos mecânicos em sementes de cafeeiro. Boletim Agropecuário, Lavras, n. 26, p. 1-34, 1998.
- VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.). Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 103-32.
- VIEIRA, R. D.; SEDIYAMA, T.; SILVA, R. F.; SEDIYAMA, C. S.; THIEBAUT, J. T. L. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de quatorze cultivares de soja (Glycine max (L.) Merrill). Revista Ceres, Viçosa, v. 30, n. 172, p. 408-418, nov./dez. 1983.
- VIEIRA, R. D.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. Electrical conductivity of soybean seeds after storage in several environmentes. Seed Science & Technology, Zurick, v.29, p. 599-608, 2001.
- VILLIERS, T. A. Ageing and longevity of seeds in field conditions. In: HEYDECKER, W. Seed ecology. London, 1973. 578 p.
- VON PINHO, E. V. R. Conseqüências da autofecundação indesejável na produção de sementes de milho. 1995. 130 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- WOODSTOCK, L. W. Physiological and biochemical tests for seed vigor. Seed Science & Technology, Zurich, v. 1, n. 1, p. 127-57, 1973.
- ZAMBOLIM, L. Café: produtividade, qualidade e sustentabilidade. Viçosa: UFV, 2000. 396 p.