

DENISE GARCIA DE SANTANA

**ADAPTAÇÃO DO TESTE DO pH DO EXSUDATO E VIABILIDADE DO USO
DA AMOSTRAGEM SEQUENCIAL NA RÁPIDA DEFINIÇÃO SOBRE O
DESTINO DE LOTES DE SEMENTES DE MILHO (*Zea mays* L.)**

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura de Lavras, como parte das exigências
do Curso de Mestrado em Agronomia, área de
concentração em Fitotecnia, para obtenção do
título de “Mestre”.

Orientador

Profa. Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira

**LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL
1994**

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da
Biblioteca Central da UFLA

Santana, Denise Garcia de

Adaptação do teste do pH do exsudato e viabilidade do uso da amostragem
seqüencial na rápida definição sobre o destino de lotes de sementes de milho
(*Zea mays* L.) / Denise Garcia de Santana. -- Lavras : UFLA, 1996.

79p. : il.

Orientador: Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Milho - Semente - Qualidade. 2. Exsudato. 3. pH. 4. Amostragem. 5.
Germinação. 6. Temperatura. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.


CDD-633.1521

DENISE GARCIA DE SANTANA

**ADAPTAÇÃO DO TESTE DO pH DO EXSUDATO E VIABILIDADE DO USO
DA AMOSTRAGEM SEQUENCIAL NA RÁPIDA DEFINIÇÃO SOBRE O
DESTINO DE LOTES DE SEMENTES DE MILHO (*Zea mays* L.)**

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura de Lavras, como parte das exigências
do Curso de Mestrado em Agronomia, área de
concentração em Fitotecnia, para obtenção do
título de “Mestre”.

APROVADA em 26 de Setembro de 1994




Prof. Maria Laene Moreira de Carvalho



Prof. Marcelo Silva de Oliveira



Prof. Antônio Carlos Fraga



Prof. Maria da Graças Guimarães Carvalho Vieira
Orientador

Aos meus pais, Altino Garcia de Santana

Martha de Moraes Santana

pelo amor, apoio, compreensão.

As minhas irmãs,

Greicilene Regina Pedro e

Déborah Garcia de Santana

Aos meus sobrinhos,

Thiago Santana Maurélio

Lucas Santana Maurélio

Ao meu marido,

Carlos Alberto Alves de Oliveira

pelo amor, carinho e amizade

Ofereço

BIOGRAFIA DO AUTOR

Denise Garcia de Santana, filha de Altino Garcia de Santana e Martha de Moraes Santana, nasceu em Santos (SP) em 11 de julho de 1967.

Em 5 de Novembro de 1991, graduou-se em Agronomia pela Escola Superior de Agricultura de Lavras- Lavras-MG.

Em 1991, iniciou o seu Curso de Mestrado Agronomia área de concentração Fitotecnia, concluindo-o em 26 de setembro de 1994.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida.

À Escola Superior de Agricultura de Lavras, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa pela bolsa de estudos.

À Prof. Dr. Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira, pela valiosa orientação do trabalho, pelo carinho a mim depositado principalmente nas horas de grande indecisão, pelo incentivo à carreira de pesquisador e por tudo que hoje representa na minha vida pessoal e profissional.

Aos professores Maria Laene Moreira de Carvalho, Antônio Carlos Fraga e Marcelo Silva de Oliveira, pelas sugestões, orientações e pelo prazer do convívio nesses anos.

Aos professores do Departamento de Ciências Exatas: Prof. Ruben Delly Veiga, Gilney de Souza Duarte, Nelson Werlang e em especial o Prof. Luiz Henrique de Aquino pelo carinho e atenção.

Aos eternos amigos e companheiros: Kenia Ferreira Rodrigues, Peter de Matos Campos e Jane Aparecida da Silva, Arlina Evaristo, Lúcia Helena de Barros Albert e Duílio Rosano Júnior.

A todos que de alguma forma, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
SUMMARY.....	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Qualidade de sementes	3
2.2 Testes rápidos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes.....	7
2.3 Fatores que influenciam os resultados do teste	14
2.4 Amostragem sequencial.....	17
2.4.1 Inferência estatística	17
2.4.2 Testes de significância.....	18
2.4.3 Teste de hipóteses	21
2.4.4 Teste sequencial da razão de probabilidade	26
2.5 Amostragem sequencial no controle de qualidade de sementes.....	30
3. MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1 Perfil das amostras dos lotes.....	35

3.1.1 Determinação do grau de umidade.....	35
3.1.2 Teste padrão de germinação	35
3.1.3 Teste de emergência de plântulas.....	36
3.1.4 Emergência sob condições controladas.....	36
3.1.5 Teste de tetrazólio	37
3.1.6 Teste de sanidade	37
3.2 Adaptação da metodologia do teste do pH do exsudato	38
3.3 Amostragem sequencial.....	40
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Caracterização do perfil das amostras dos lotes	46
4.2 Potencial de germinação obtido pelo teste do pH do exsudato-fenoltaleína..	49
4.3 Amostragem sequencial.....	61
5. CONCLUSÕES.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
APÊNDICE.....	77

LISTA DE TABELAS

TABELA.....	pg.
1. Valores calculados dos limites de decisão do plano de amostragem sequencial para $p_o=0,85$; $p_I=0,90$ e $\alpha=\beta=0,05$ e grupos de sementes de tamanho $m=20$. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.	40
2. Tamanho médio de amostra ($TMA(p)$) em função dos valores atribuídos a W no intervalo de -50 e 50. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.	43
3. Médias dos dados do teste padrão de germinação (%), emergência em de plântulas no campo aos 7 e 15 dias (%), emergência sob condições controladas, potencial de germinação pelo teste de tetrazólio (%) e grau de umidade (%) de sementes de milho (<i>Zea mays</i> L.) . ESAL, Lavras, 1993/94.	47
4. Médias dos dados de incidência de fungos(%) nas amostras de sementes dos nove lotes testados. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.	49
5. Potencial de germinação (%) de sementes de milho (<i>Zea mays</i> L.) obtido pelo teste do pH do exsudato, sob dois tempos de embebição (15 e 30 minutos), à temperatura de 25°C em sementes íntegras, escarificadas fisicamente e seccionadas ao longo do eixo embrionário. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.	50
6. Potencial de germinação (%) de sementes de milho (<i>Zea mays</i> L.) obtido pelo teste do pH do exsudato, sob dois tempos de embebição (45 e 60 minutos), à temperatura de 25°C em sementes íntegras, escarificadas fisicamente e seccionadas ao longo do eixo embrionário. ESAL, Lavras-MG, 1993/94..	54
7. Potencial de germinação (%) de sementes de milho (<i>Zea mays</i> L.) obtido pelo teste do pH do exsudato, sob dois tempos de embebição (15 e 30 minutos), à temperatura de 30°C em sementes íntegras, escarificadas fisicamente e seccionadas ao longo do eixo embrionário. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.	57

8. Potencial de germinação (%) de sementes de milho (*Zea mays* L.) obtido pelo teste do pH do exsudato, sob dois tempos de embebição (45 e 60 minutos), à temperatura de 30°C em sementes íntegras, escarificadas fisicamente e seccionadas ao longo do eixo embrionário. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.59
9. Coeficientes de correlação “r” entre o teste padrão de germinação e potencial de germinação obtido pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína para os nove lotes de sementes de milho. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.....61
10. Número de sementes necessário no plano de amostragem sequencial para a decisão de aceitar ou rejeitar o lote, em função do potencial de germinação determinado pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.62
11. Valores calculados da curva característica de operação do plano de amostragem sequencial para os parâmetros $p_o=0,85$; $p_l=0,90$ e $\alpha=\beta=0,05$ e do plano de amostra fixo ($n=400$ sementes). ESAL, Lavras-MG, 1993/94.65

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	pg.
1. Linhas de decisão do plano de amostragem sequencial com parâmetros $p_o=0,85$; $p_I=0,90$ e $\alpha=\beta=0,05$. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.	42
2. Curva do tamanho médio de amostra do plano de amostragem sequencial para os parâmetros $p_o=0,85$; $p_I=0,90$ e $\alpha=\beta=0,05$. ESAL, Lavras-MG, 1994/94.	44

RESUMO

SANTANA, D.G. Adaptação do teste do pH do exsudato e viabilidade do uso da amostragem sequencial na rápida definição sobre o destino de lotes de sementes de milho (*Zea mays* L.). Lavras: ESAL, 1994. 79p. (Dissertação: Mestrado em Fitotecnia)*

Testes rápidos que determinem prontamente a qualidade de sementes vem sendo desenvolvidos objetivando a diminuição dos custos no processo produtivo, principalmente nas fases de beneficiamento, embalagem e armazenamento, que poderão ser excluídas para lotes que estejam abaixo de padrões pré-determinados. Outro aspecto importante para esta redução de custos é a associação de testes rápidos com métodos de amostragem eficientes que reduzam o tamanho da amostra para a execução dos testes sem perder a representatividade e confiabilidade dos resultados, como é o caso da amostragem sequencial. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a temperatura, tempo de embebição e tipo de preparo das sementes, para o teste do pH do exsudato-fenolftaleína em sementes de milho e sua aplicação no plano de amostragem sequencial. Para o desenvolvimento da metodologia do teste do pH do exsudato-fenolftaleína, nove lotes de sementes de milho foram submetidas ao esquema fatorial 3x4x9 (três tipos de preparo das semente: íntegras, escarificadas e seccionadas ao longo do eixo embrionário, quatro tempos de embebição: 15, 30, 45 e 60 minutos e nove lotes) num delineamento inteiramente casualizado com oito repetições. Foram utilizadas duas temperaturas de

* Orientador: Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira. Membros da banca: Antônio Carlos Fraga, Marcelo Silva de Oliveira e Maria Laene Moreira de Carvalho.

embebição (25 e 30°C) A variação do pH de cada semente foi medida pelo método colorimétrico, pela adição de 1 gota de fenolftaleína à 1 % e carbonato de sódio anidro à 0.8 g/l ao meio de embebição das sementes que continha 2 ml de água destilada e deionizada à $\text{pH} = 7.0 \pm 0.5$. A avaliação foi em função da tonalidade de coloração. As células, nas quais os exsudatos apresentaram cor rosa escuro, as sementes foram computadas como viáveis, a rosa claro, sementes viáveis que originariam plântulas anormais e incolor, sementes mortas. O plano de amostragem sequencial foi aplicado variando o tamanho da amostra de 200 até 400 sementes num intervalo de 20 sementes. A utilização de sementes escarificadas com o tempo de 30 minutos de embebição à temperatura de 25°C, apresentou alta correlação ($r=0,99$) com o teste padrão de germinação. No plano de amostragem sequencial verificou-se que lotes de qualidade fisiológica intermediária necessitaram um tamanho de amostra igual ou superior ao plano de amostra fixo ($n=400$). Para sementes de alta e baixa qualidade foi conseguida uma redução do tamanho da amostra (120 e 180 sementes, respectivamente).

SUMMARY

ADAPTATION OF THE TEST OF THE pH OF EXUDATES AND VIABILITY OF THE USE OF SEQUENTIAL SAMPLING IN THE FAST DEFINITION ABOUT THE DESTINY OF LOTS OF CORN SEEDS (*Zea mays* L.)

Fast tests which determine promptly the quality of seeds have been developed aiming at the reduction in costs of the production process, principally in the treatment packing and storing stages, which could be excluded for lots which are below pre determined standards. Another important aspect for the reduction in costs is the association of fast tests with methods of efficient sampling which reduces the size of the sample for performance of the tests without losing the representativity and reability of the results, as is the case of sequential sampling. This work was carried out with the objective of determining the temperature, the imbibing time and the type of preparation of the seeds, for the pH exudates in corn seeds and its application in the sequential sampling plan. For the development of the methodology of the pH exudates test, nine lots of corn seeds were submitted to the factor scheme 3x4x9 (three types of preparation of seeds: whole, scarified and sectioned along the axel; four imbibing periods: 15, 30, 45 e 60 minutes and nine lots in a completely random design with eight repetitions. Two imbibing temperatures were used (25 e 30 °C). The pH variation of each seeds was measured by the colorimetric method, by addition of one drop of phenolphthalein at 1% and waterless sodium carbonate at 0,8 g/l to imbibing of the seeds which contained 2ml of distilled and deionized water to pH=7,0 ± 0,5. The evaluation was in the tems of tone of the colouring the cells in which the exudates presented a rose colour, the seeds were computed as viable, light rose as viable seeds which originated from abnormal seedlings and colorless as dead seeds. The plan of sequential sampling was applied varying the size of the sample

from 200 to 400 seeds at intervals of 20 seeds. The use of scarified seeds with an imbibing time of 30 minutes at a temperature of 25°C, presented a high correlation ($r=0,99$) with the standard germination test. In the plan of sequential sampling it was ascertained that lots of intermediated physiological quality needed a sample the same size or superior to the plan for the fixed sample ($n=400$). For seeds of higt and low quality a reduction in the size of the sample was obtained (120 and 180 seeds, respectively).

1 INTRODUÇÃO

A avaliação da qualidade de sementes através de testes rápidos, vêm assumindo cada vez maior importância no contexto da produção de sementes, não só para dar subsídios aos programas de controle de qualidade, mas na agilização do processo de produção e redução de custos.

À medida que o controle de qualidade evolui dentro dos programas das empresas produtoras, cresce a necessidade da adequação de metodologias específicas as diferentes espécies de sementes.

O intenso processo produtivo de sementes de milho, cultura de alto valor econômico e social para nosso país gera grandes volumes a serem beneficiados, ensacados e armazenados. Custos adicionais com esses processos podem ser reduzidos quando da utilização de testes que avaliem prontamente sua qualidade fisiológica.

Diversos testes vêm sendo desenvolvidos nesse sentido e em sua maioria baseados na propriedade das membranas através da quantificação de substâncias lixiviadas, a exemplo de autores como Matews e Powell (1981) que trabalharam com o teste da condutividade elétrica. Apesar de ser um teste largamente usado pelos laboratórios, segundo Tekrony (1983), necessita ainda de aferições e diminuição do tempo de duração para que atinjam as necessidades dos produtores, pois os lotes não podem ser prontamente avaliados.

O teste do pH do exsudato baseado na alteração do pH provocada pela exsudação de lixiviados, tem mostrado correlações significativas com o teste padrão de germinação para sementes de diferentes espécies, a exemplo da soja. Apesar de ser um teste simples e rápido a avaliação baseada no desenvolvimento da coloração, pode dar ao

teste uma conotação subjetiva que associada ao efeito de outros fatores como umidade da semente, temperatura e tempo de embebição irão influenciar o resultado e eficácia do teste.

Como os testes são realizados em amostras dos lotes, a representatividade é um fator preponderante na confiabilidade dos resultados. Desta forma, planos de amostragem vêm sendo desenvolvidos ao longo dos anos, na tentativa de se conseguir amostras que expressem a sua real qualidade e que ao mesmo tempo reduzam o gasto de sementes para o desenvolvimento do teste. A amostragem sequencial, por utilizar amostras de diferentes tamanhos, possibilita esta redução e aponta os tipos de riscos envolvidos em tomadas de decisão sobre a qualidade de lotes.

Os objetivos do trabalho foram: Adaptar a metodologia do teste do pH do exsudato e verificar a eficácia do plano de amostragem sequencial em tomadas de decisão sobre a qualidade de sementes de milho.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Qualidade de sementes

De maneira generalizada, qualidade de um produto significa adequação ao uso (Montgomery, 1985). Em sementes, para que a qualidade seja adequada, uma série de providências entre as quais está a inspeção de campo e a análise de sementes, devem ser tomadas no sentido de transportá-la para o produto final. Portanto, conceitos de qualidade e análise de sementes não podem ser confundidos, uma vez que a análise por si só, constitui-se apenas uma ferramenta que orienta o controle. Assim, qualidade de sementes, segundo Popinigis (1985) é um conjunto de características entre as quais cita-se viabilidade, vigor, grau de umidade, danos mecânicos, sanidade, tamanho, aparência, longevidade e desempenho. Resumindo, qualidade de sementes é o conjunto de atributos físicos, fisiológicos, genéticos e sanitários.

Segundo Marcos Filho, Cícero e Silva (1987) para que a análise de sementes possa ocupar um papel indispensável na determinação da qualidade de lotes de sementes é de fundamental importância que métodos padronizados forneçam dados precisos e confiáveis, capazes de obter resultados uniformes e comparáveis.

De maneira geral, os testes se baseiam em princípios de deterioração de sementes, ou seja, medem determinadas modificações que ocorrem nas sementes a medida que estas deterioram ou sua capacidade em resistir determinada condição adversa (Glosh, Adikary e Banerjee, 1981). O princípio da deterioração é atribuído a vários processos bioquímicos, como a desnaturação de biomoléculas e acúmulo de substâncias tóxicas nas sementes (Abdul Baki e Anderson, 1972), perda da integridade da membrana citoplasmática, com conseqüente lixiviação dos componentes citoplasmáticos para o meio externo (Glosh, Adikary e Banerjee, 1981). Já para Abdul Baki e Anderson (1973) deterioração é qualquer transformação degenerativa irreversível na qualidade da semente, após esta ter atingido seu nível máximo de qualidade.

Para o entendimento do processo de deterioração é essencial o conhecimento do mecanismo físico segundo o qual a célula perde seus componentes celulares. A embebição de uma semente ocorre através do processo de difusão, que é o movimento, ao acaso, de partículas de determinada substância, distribuindo-se uniformemente num espaço disponível. A embebição da semente está relacionada às propriedades dos colóides (Popinigis, 1985). Para De Roberts e De Roberts (1986) a especificidade da membrana no transporte de moléculas é o mecanismo no qual a membrana regula o movimento de água e solutos para dentro e fora das células. Para entendimento da função da membrana no processo de deterioração, basta salientar que o sistema de membranas celulares é a última estrutura a organizar-se antes da maturação fisiológica sendo assim é a primeira a exibir alterações degenerativas que caracterizam a deterioração de sementes (Heydecker, 1974).

Entre os vários processos que afetam a embebição, o grau de umidade pode influenciar no transporte de substâncias. Simom (1978) cita que, membranas de sementes secas formam uma barreira eficiente à movimentação de água e solutos. Segundo Murphy e Noland (1982) na fase inicial de hidratação ocorre uma organização do sistema de membranas, exibindo esta, eficiente propriedade semi-permeável. Os mesmos autores afirmam que o excesso de água antes da organização é acompanhada de um desacoplamento dos componentes das membranas, mistura com os componentes celulares e perda dos mesmos para o meio líquido. Segundo Carvalho e Nakagawa (1980) o processo de embebição depende de três fatores principais: da composição química da semente, da permeabilidade do seu tegumento à água e da presença de água na forma líquida ou gasosa no meio onde o processo está ocorrendo.

Apesar do consenso entre os autores que a desestruturação do sistema de membranas e o aumento da permeabilidade é a primeira consequência do processo de deterioração, dificuldades ocorrem na determinação do verdadeiro mecanismo envolvido Vieira e Carvalho (1994).

Abdul-Baki e Baker (1973) em sua discussão tentando associar o baixo vigor de sementes com mudanças em organelas celulares, relatam que essas organelas se encontram continuamente mudando e que essas mudanças são adaptativas em resposta ao desenvolvimento interno das células. Isso indica, segundo os autores, que transformações em organelas, relacionadas a deterioração, compreendem uma pequena parte do total de mudanças. Sabendo que sementes armazenadas tendem a perder sua viabilidade, Roberts (1973) verificou que essa perda é função de variações genéticas e cromossomais

associadas a temperatura e umidade da semente, sendo menos relevante a idade da semente.

Outros estudiosos sugerem que o aumento ou diminuição de determinado composto no período de germinação podem dar um indicativo do processo de deterioração envolvido. Neste sentido, pode-se citar trabalhos de Basavarayappa, Shetty e Prakash (1991) que observaram haver um decréscimo no nível de fosfolipídeos e redução na atividade da peroxidase em sementes de milho envelhecidas. Verificaram ainda um decréscimo no conteúdo de substâncias de reservas como carboidratos, proteínas e fosfolipídeos. Segundo esses autores, esta perda pode ser atribuída a diminuição da integridade da membrana

A análise quantitativa através de solutos lixiviados pelas sementes tem sido usada para avaliação da qualidade de sementes, Deswal e Sheoran (1993). Métodos para medir e quantificar esses metabólitos foram desenvolvidos com o intuito de determinar indiretamente a viabilidade da semente. Alguns experimentos mostraram haver correlações positivas entre açúcares e eletrólitos lixiviados pelas sementes e a diminuição da viabilidade, como os encontrados por Abdul-Baki e Anderson (1970) e Agrawal (1977).

2.2 - Testes rápidos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes

No controle de qualidade de sementes é fundamental o uso de métodos padronizados para testes de rotina, garantindo a segurança e confiabilidade dos resultados. No entanto, os testes de rotina gastam muito tempo para indicar a viabilidade de um lote de sementes e isso, segundo Delouche (1976) inviabiliza decisões rápidas sobre os processos de beneficiamento e armazenamento.

Os testes rápidos têm como objetivo principal avaliar a viabilidade de um lote em tempo menor quando comparado ao teste padrão de germinação. Esses testes se baseiam principalmente em propriedades físicas e fisiológicas das sementes envolvendo processos respiratórios, como o teste de tetrazólio (ou ainda na permeabilidade da membrana ao avaliar a perda de metabólitos durante o processo de embebição de sementes como a condutividade elétrica). O teste de tetrazólio é um dos testes mais promissores que envolvem atividade enzimática para uma estimativa rápida do potencial de germinação de uma semente. O teste, por permitir uma avaliação individual da semente, se mostra como um procedimento de sucesso para avaliação da qualidade do lote, Delouche (1976). Apesar dessas características que fazem do teste um dos mais utilizados e promissores, requer experiência e dispêndio de tempo por parte do analista em analisar semente por semente (Antepara, 1979). Os métodos que são baseados numa certa quantidade de sementes, podem apresentar resultados satisfatórios ao avaliar vigor de sementes devido ao aspecto comparativo, mas ao avaliar germinação este não parece ser um procedimento preciso.

Outros processos que relacionam a propriedade semi-permeável da membrana foram desenvolvidos no sentido de estimar o potencial de germinação dos lotes, como o teste da condutividade elétrica que avalia a perda de eletrólitos para o meio de embebição, Powell e Matthews (1980). Abdul-Baki e Anderson (1973) trabalhando com sementes de soja, citam as vantagens e a rapidez da determinação utilizando-se de métodos que avaliem a qualidade das sementes através dos metabólicos, que são perdidos pelas sementes para o meio quando essas são embebidas.

Apesar de Tekrony (1983) relatar o uso do teste de condutividade elétrica nos testes de rotina no período de 1972-82, problemas com a sua aplicação foram citados por Hepburn, Alison e Matthews (1984) ao constatarem que sementes de algumas cultivares de ervilha apresentavam valores de condutividade maior que as outras, ainda que não houvesse variação no tamanho e na qualidade fisiológica das sementes. Como quase todos os testes que associam as propriedades da membrana para a determinação do potencial de germinação, a condutividade elétrica é afetada por danos de embebição às sementes (Powell, 1986), danos no tegumento (Loeffler, Tekrony e Egly 1981), pela cultivar (Bruggink, Kraak e Beikendam, 1991) efeito da temperatura e tempo de embebição.

Algumas alternativas para o aprimoramento do teste da condutividade elétrica foram propostas por Deswal e Sheoram (1993) ao trabalharem com medidas de absorvância espectrofotométrica. Os autores concluíram que medidas de condutividade elétrica apresentaram boa correlação quando a concentração de eletrólitos na semente era alta, mas em sementes pequenas que lixiviam eletrólitos em concentrações pequenas, o

procedimento era pouco satisfatório. Herter e Burris (1989) usaram a condutividade elétrica para detectar danos por secagem em sementes e concluíram que o teste têm potencial para detecção de danos por injúrias.

Apesar da condutividade elétrica ser um teste fácil e rápido, testes alternativos foram desenvolvidos levando em consideração variações no pH do exsudato de sementes embebidas e procedimentos colorimétricos. A intenção da utilização desses métodos alternativos para a avaliação da qualidade, foi primeiramente desenvolvida por Fernandes, Petrini e Amaral (1984) ao enunciarem um novo teste para a determinação da viabilidade de sementes de soja com o uso do timerosal. Os autores verificaram que essas sementes ao serem colocadas para embeber individualmente em água por 24 horas a 20°C e adicionando-se após este período duas gotas da solução de timerosal, a reação ocorrida com as sementes proporcionava duas tonalidades de cores diferentes: uma coloração avermelhada indicando a deterioração da semente e outra alaranjado brilhante, indicando sementes viáveis. Esta variação na tonalidade do exsudato da semente foi atribuída pelos pesquisadores a uma variação do pH do meio de embebição.

Logo após esta constatação de Fernandes , Petrini e Amaral (1984), Amaral e Peske (1984) observaram que algumas células contendo sementes de soja e água apresentavam uma coloração mais forte do que células onde havia apenas água, verificando assim que as propriedades do meio de embebição haviam modificado. Apesar desta observação, outros estudiosos como Murphy e Noland (1982) acreditavam que essas mudanças na tonalidade dos exsudatos de sementes eram apenas de natureza física e não

química, mas Mayber e Poljakoff-Mayber (1975) garantem que ambas propriedades estão envolvidas no processo. Amaral e Peske (1984) também verificaram que quando o pH do meio de embebição contendo sementes de soja, apresentava-se menor ou igual a 5,8, as sementes estavam inviáveis, ao passo que em valores acima de 5,8 as sementes encontravam-se viáveis, constatando-se assim que o pH de 5,8 do meio de embebição era o limite entre sementes viáveis e inviáveis. Neste mesmo ano os autores determinaram o pH do exsudato de sementes de soja com o uso de substâncias indicadoras, a fenolftaleína e o carbonato de sódio anidro e concluíram que no tempo de 30 minutos de embebição foi possível distinguir através da coloração do meio de embebição, sementes viáveis de inviáveis. Peske e Amaral (1986) utilizaram como procedimento para determinação do pH um peagâmetro digital ao invés de substâncias indicadoras, encontrando alto coeficiente de correlação ($r=0,99$) entre os exsudatos de sementes com pH acima de 5,8 e os dados obtidos pelo percentual de germinação desses lotes.

Barros (1988) utilizando substâncias indicadoras no teste do pH como citado por Amaral e Peske (1984) para sementes de soja, porém trabalhando com diferentes tempos de embebição e de lotes de qualidade fisiológica diferente, não encontrou resultados satisfatórios para separação dos lotes de diferentes qualidades fisiológicas, muito provavelmente pelo fato da pequena diferença de qualidade entre eles, mostrando assim a pouca sensibilidade do teste, principalmente quando realizado a 20 minutos de embebição. Isso evidencia a menor lixiviação do agente causador da redução do pH neste

tempo de embebição, estando de acordo com o que foi discutido por Amaral e Peske (1984).

Barros e Marcos Filho (1990) utilizando do teste do pH do exsudato para avaliar cinco épocas diferentes de colheita em sete lotes de sementes de soja, conseguiram correlações de até 0,90 entre a emergência em campo e o teste da fenolftaleína sob 30 minutos de embebição, apesar do teste ter apresentado tendência em superestimar a viabilidade de lotes com maior grau de deterioração. No trabalho de Tyag (1993) o autor empregou o teste do pH do exsudato para determinar a viabilidade de sementes de três variedades de soja em duas épocas distintas de colheita. Os resultados mostraram que tanto o teste padrão de germinação como o teste da fenolftaleína foram capazes de detectar uma queda na germinação de sementes colhidas tardiamente, apesar do potencial de viabilidade obtido pelo teste do pH ter apresentado tendência de superestimar a capacidade germinativa nas duas épocas de colheita.

Em sementes de feijoeiro, Fernandes, Sader e Carvalho (1987) conseguiram determinar a viabilidade de sementes em 30 minutos utilizando a metodologia do teste do pH do exsudato. Foi verificado que entre os sete cultivares estudados, quatro apresentavam resultados semelhantes entre o teste do pH do exsudato e o teste padrão de germinação.

Carvalho (1992) em seus estudos sobre a adaptação do teste do pH do exsudato para sementes de algodão, avaliou o efeito da temperatura de embebição e do

deslincamento. O autor concluiu que o teste do pH é viável para separar lotes de sementes de algodão em diferentes níveis de qualidade. Com relação ao efeito da temperatura de embebição, o autor detectou que à 25°C só foi possível classificar os lotes em melhor ou pior qualidade, ao contrário da temperatura de 40°C que separou as amostras em diferentes níveis de qualidade. Concluiu também, que o teste aplicado em sementes deslincadas quimicamente proporciona uma separação de lotes em diferentes níveis de qualidade, mostrando capacidade de estimar a viabilidade das sementes. No entanto, quando aplicado em sementes com linter, não apresenta capacidade de estimar a viabilidade das sementes, embora tenha sido capaz de separar lotes de diferentes níveis de qualidade.

Doni Filho e Doni (1988a) estudando a viabilidade do uso do teste do pH do exsudato em sementes de mamona, detectando a exsudação em diversas partes da semente, puderam constatar que em sementes íntegras o meio de embebição inicialmente era ácido, tornando-se básico com o passar do tempo. Com a remoção da carúncula antes do processo de embebição, o exsudato também tendia a tornar-se mais básico com o passar do tempo, evidenciando-se assim que é a carúncula que determina o pH mais ácido no período inicial de sementes íntegras. Quando foi testado sementes sem tegumento o pH do exsudato assumia comportamento inverso do obtido com sementes com tegumento, tornando-se ácido com o decorrer do tempo, de maneira semelhante ao que ocorre com a soja e feijão.

Avanços para determinação da metodologia adequada do teste do pH em sementes de milho foram alcançados por Peske et al., (1990), que ao trabalharem com duas concentrações da solução de fenolftaleína e carbonato de sódio anidro, os autores conseguiram para o tratamento de 20 minutos de embebição à 0,5% de fenolftaleína e 0,8 g/l de Na_2CO_3 uma correlação de 90% com o teste padrão de germinação. Apesar da alta correlação, o tipo de preparo por secção da semente ao longo do eixo embrionário pode apresentar uma baixa correlação para sementes de qualidade fisiológica inferior. Também em sementes de milho, a aplicação do teste da fenolftaleína como um teste rápido foi discutida por Doni Filho e Doni (1988b), utilizando como metodologia do teste do pH do exsudato a imersão de sementes em 4 ml de água por 100 minutos, medindo-se o seu pH, e posteriormente retirando-as do seu exsudato e colocando-as para germinar. No exsudato das sementes foi aplicada uma gota de carbonato de sódio e outra de fenolftaleína, anotando-se os resultados da coloração obtida. Neste ensaio, os autores encontraram resultados contraditórios aos de Barros (1988) para soja, uma vez que o teste apresentou para todos os lotes, resultados de viabilidade menor que o obtido no teste de germinação. Outra observação dos autores foi a ocorrência de exsudatos incolores que segundo a metodologia seriam sementes inviáveis, mas que submetidas ao teste padrão de germinação originaram plântulas normais.

2.3 - Fatores que influenciam os resultados do teste

De acordo com Popinigis (1985) o processo de embebição é do tipo difusão, sendo este o movimento ao acaso de partículas de determinada substância, distribuindo-se uniformemente num espaço disponível. A embebição pelas sementes está relacionada às propriedades dos colóides. A velocidade de absorção de água da semente varia em função de diversos fatores sendo que a temperatura é um dos mais importantes. Holtzman e Novikoff (1985) verificaram que o aumento da temperatura aumenta a fluidez da membrana citoplasmática, facilitando assim o movimento da água através dessa. Givelberg, Horowitz e Poljakoff-Mayber (1984) mostraram que sementes embebidas de *Solanum nigrum* L., submetidas à altas temperaturas, aumentaram a lixiviação de solutos. Esses resultados enfatizam os obtidos por Hotzmam e Novkoff (1985). Mas, apesar de aumentar a fluidez da membrana, o aumento excessivo da temperatura pode causar a ruptura das membranas e, como consequência, a lixiviação de íons orgânicos, aminoácidos, ácidos nucleicos e proteínas. Outro aspecto importante é que esse aumento de temperatura nos primeiros momentos da embebição aumenta a taxa de absorção da semente.

Brown (1912) citado por Leopold (1980), constatou que a razão de absorção de água aumenta exponencialmente com o aumento da temperatura. Leopold (1980), trabalhando com a curva de Arrhenius, verificou que a razão de absorção de água e a perda de solutos lixiviados é constante após os primeiros minutos de embebição. Mostrou ainda que o aumento da temperatura aumenta a quantidade de material lixiviado pelas

sementes principalmente nos tecidos mortos. Esta constatação , segundo o autor, é consistente com a idéia de que razões de lixiviação elevadas são indicativas da eficiência da membrana,

O efeito da umidade da semente no processo, segundo Becwar, Stanwood e Ross (1982) está na estreita relação entre a umidade contida na semente e o rápido aumento da lixiviação de solutos. Ao trabalharem com sementes recalcitrantes, os autores verificaram que quanto menor o grau de umidade da semente, maior a quantidade inicial de solutos lixiviados. Colero, West e Hinson (1981) ao encontrarem correlação não significativa entre o peso inicial da semente e aumento da absorção de água após 8 horas de embebição, concluíram que a absorção de água é função de vários outros fatores e não do tamanho da semente.

Fatores de natureza física associados com o processo de embebição são citados por Bruggink, Kraak e Bekendam (1991) ao verificarem sementes de milho submetidas á vários tipos de preparo (sem dano, dano severo no embrião e endosperma). Este concluíram que após sete horas de embebição à 10⁰C, que sementes danificadas apresentavam aumento significativo na lixiviação. Ainda segundo estes autores, substâncias localizadas no pericarpo do milho são responsáveis pelo rápido aumento de eletrólitos lixiviados nas primeiras horas de embebição das sementes.

Métodos para análise qualitativa de substâncias envolvidas no processo de deterioração foram mencionadas por Abdel Samad e Pearce (1978) ao trabalharem com

sementes de amendoim com e sem testa. Os autores verificaram que após 20 minutos de embebição, quantidades de potássio e de fosfatos lixiviados foram maiores em sementes sem testa. Açúcares redutores foram inicialmente lixiviados em grandes quantidades, de sementes intactas, mas a partir de 4 horas de embebição, sementes sem testa lixiviaram maiores quantidades. Larson (1968) constatou que o tegumento em sementes de ervilha propiciaram uma barreira eficiente para a perda de solutos. A remoção desta barreira física aumenta a razão de embebição como também a perda de solutos por difusão. Relatou também o autor, que a diferença na estrutura e composição do tegumento e embrião de sementes maduras de ervilha podem causar uma variação de embebição exibida por esses dois tecidos. Em função do pericarpo ser grande fonte de eletrólitos Bruggink, Kraak e Bekendam (1991) afirmam que a cultivar exerce maior influência na variação dos resultados quando comparado a qualidade fisiológica dos lotes. Esta mesma influência da cultivar foi verificada por Joo et al. (1980).

Gilverberg, Horowitz e Poljakoff- Mayber (1984) observaram um aumento na lixiviação dos cátions K^+ , Na^+ , Ca^+ e Mg^{++} crescente até 6 horas de embebição de sementes de *Solanum nigrum* L.. Abdul-Baki e Anderson (1970) observaram que um aumento da lixiviação de açúcares de sementes é acompanhada de redução da viabilidade. Assim, Ching e Schoolcarft (1968) propuseram estimar viabilidade de sementes com base em açúcares contidos nas substâncias lixiviadas. Para Flood e Sinclair (1981) a presença de ácido oléico em sementes de *Trifolium subterraneum* e o decréscimo de ácido graxos é acompanhada pela perda da permeabilidade da membrana.

Outras substâncias foram encontradas em sementes envelhecidas de algumas espécies. Loomis e Smith (1980) verificaram que após o envelhecimento artificial, concentrações de Ca, Mg, Cl, e K foram encontradas em sementes de repolho e concluíram que o Ca, Mg e Mn não aumentam sua taxa de lixiviação com o envelhecimento. Já o Cl e K diminuíram com o aumento do tempo de embebição.

A presença de microorganismos em exsudatos de sementes quando estas se encontravam no solo já foi observado por muitos autores, mostrando que a presença de exsudatos favorece o aparecimento de fungos. Estreita relação entre material lixiviado de sementes com susceptibilidade ao ataque de fungos foram citados para sementes de ervilha por Flentke e Saksena (1964) e em algodão por Heyman (1969).

2.4 Amostragem sequencial

2.4.1 Inferência estatística

A avaliação da qualidade de um lote de sementes a partir de uma amostra desse lote é de fato um procedimento inferencial para o qual é solicitado o auxílio da Estatística. Toda e qualquer Inferência Estatística pode ser classificada em dois tipos de procedimentos: Estimação de Parâmetros que descrevem a população (o lote) sob estudo ou Teste de Hipóteses sobre esta população. Estimando ou testando, o usuário tratará com os três conceitos fundamentais da inferência: utilidade da inferência, certeza da Inferência

e custo da inferência. A utilidade de uma inferência é finalmente definida através de considerações extra-Estatística, enquanto certeza e custo tem uma definição exata dentro da própria Estatística.

Mesmo que estimar seja um procedimento útil em tecnologia de sementes, testar ainda é mais prático e suficiente em muitos casos. Basicamente dois tipos de Testes de Hipóteses existem: os Testes de Significância e os Testes de Hipóteses propriamente ditos. No primeiro tipo, essencialmente o que se faz é avaliar as evidências que uma amostra apresenta, contra ou a favor, à uma pré-determinada hipótese, chamada tradicionalmente de Hipótese de Nulidade, H_0 . Já nos Testes de Hipóteses propriamente ditos procura-se levar em consideração também uma segunda hipótese H_1 , chamada de Hipótese Alternativa.

2.4.2 Testes de significância

Nos Testes de Significância, a única certeza que realmente se deseja medir (ou controlar) é a certeza de que não está sendo rejeitada uma hipótese verdadeira, ou, em outras palavras, deseja-se controlar a probabilidade de que o erro tipo I não está sendo cometido (a probabilidade de cometer o erro tipo I é chamado de Nível de Significância do teste ou ainda, “Valor de Probabilidade”). O custo para um teste de significância é diretamente proporcional ao tamanho da amostra, tamanho este dimensionado para que o teste tenha um nível de significância α pré-estabelecido.

Na avaliação de qualidade de sementes, um dos parâmetros a ser credenciado é a porcentagem de germinação. Pode-se então usar um teste de significância para testar $H_o: p = p_o$, ou seja, a hipótese de que a porcentagem de germinação de um dado lote é igual à p_o (de fato, é útil acrescentar que as idéias aqui apresentadas se aplicam à qualquer parâmetro θ (teta) associado ao lote, e não apenas à porcentagem de germinação). Um teste de significância verificará se uma amostra de n sementes reúne evidências suficientes para rejeição de H_o . Seja \hat{p} a porcentagem de germinação na amostra. Pelo Teorema Central do Limite, \hat{p} tem uma distribuição Normal Aproximada, com média p e desvio padrão $\sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$ (Rohatgi, 1976). O Nível de Significância do Teste ou o Valor da Probabilidade do Teste é definido como a probabilidade de \hat{p} ser maior do que o valor encontrado na amostra, se este valor é maior do que p_o , ou de \hat{p} ser menor do que o valor encontrado na amostra, se este valor é menor do que p_o .

É interessante observar que preocupar-se com o Nível de Significância do Teste é preocupar-se apenas com o Erro Tipo I. Se p_o é a porcentagem de germinação mínima legal, vê-se que um Teste de Significância preocupa-se somente em não prejudicar o produtor de sementes.

Usualmente, o que se faz é estabelecer um valor mínimo de significância α (freqüentemente adotado como 5% e 1%) e convencionar-se que um valor de probabilidade abaixo de α leva à rejeição de H_o :

$$\frac{\hat{p} - p_o}{\sqrt{\frac{p_o(1-p_o)}{n}}} \geq z_\alpha \Rightarrow \text{Rejeição de } H_o$$

A idéia de “Nível de Significância do Teste” pode ser generalizada pelo conceito de “Curva Característica de Operação do Teste”, que é definida pela função de p dada por:

Prob{ Aceitação H_0 / porcentagem de germinação é p }

Neste caso estudado esta função é dada por:

$$\text{Prob} \left\{ \frac{\hat{p} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}} < z_\alpha \right\}$$

Esta função permite calcular a probabilidade de se aceitar H_0 (e consequentemente rejeitar o lote, se p_0 é um valor baixo de porcentagem de germinação), em função do valor verdadeiro p de porcentagem de germinação do lote. O Nível de Significância do Teste é um dado particular dessa função, exatamente quando $p=p_0$ de tal modo que:

Nível de Significância = 1- valor da curva característica de operação do teste para $p=p_0$
do Teste

Voltando a considerar o problema do custo da inferência, vê-se que este teste usa uma amostra com tamanho n fixo (usualmente $n=400$ sementes para testar a

germinação). Mas, à princípio, nada impede que teste-se sequencialmente, não fixando à priori o tamanho da amostra.

À cada semente ensaiada para germinação pode-se calcular a quantidade

$\frac{\hat{p} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$. Para o primeiro valor de n , se a quantidade for maior do que z_α , rejeita-se

p_0 ; enquanto $\frac{\hat{p} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$ for menor do que z_α , continua-se amostrando. Este

procedimento sequencial apresenta como fator limitante, a possibilidade de se amostrar indefinidamente, sem tomar uma decisão sobre o lote de sementes. Uma solução para este problema seria limitar o número de sementes ensaiadas em um valor n -máximo, por exemplo, n -máximo=400 sementes. Desta forma, constrói-se um teste sequencial truncado de significância, com risco (certeza) de cometer o erro de rejeitar uma hipótese verdadeira (prejudicando assim o produtor da semente) controlado em no máximo α .

2.4.3 Teste de hipóteses

Tanto na versão com tamanho fixo para amostras como na versão sequencial, os testes de significância atentam somente para os riscos do produtor das sementes, não levando em consideração que o comprador das sementes também corre riscos, e que estes devem também ser controlados. Enquanto um produtor perde se uma boa semente é classificada como ruim num teste, um comprador será prejudicado se uma semente de má

qualidade for classificada como boa pelo mesmo teste. Ambos são erros, e ambos devem ser controlados. Usando ainda a porcentagem de germinação, mas ainda lembrando que a teoria é geral e aplica-se a qualquer parâmetro θ , pode-se definir $H_0: p=p_0$ como a hipótese que afirma um valor baixo (p_0) para a germinação das sementes e $H_1: p = p_1$, como a hipótese que afirma que um valor bom (p_1) para esta mesma característica do lote.

O primeiro esforço objetivo para testar H_0 versus H_1 , foi desenvolvido com sucesso por Neyman e Pearson (1933) citado por Rohatgi (1976) e consumado no famoso Teorema de Neyman e Pearson. Este teorema permite a construção de um teste de hipóteses que garante a menor probabilidade β de aceitar uma hipótese H_0 falsa à uma probabilidade fixada α de rejeitar H_0 verdadeira. Nesta aproximação do problema de testar $H_0: p = p_0$ versus $H_1: p = p_1$, Neyman e Pearson ensinam como, pode-se obter, para um dado valor de n , um teste que garante α controlado (à um nível pré-estabelecido) e também garante ainda que β é o menor valor possível.

Para o problema de testar a porcentagem de germinação de sementes, pode-se demonstrar que o teste de hipótese que testa $H_0: p=p_0$ contra a hipótese $H_1: p=p_1$ ($p_1 > p_0$) com α pré-fixado para como o menor possível é dado por

$$\frac{\hat{p} - p_0}{\sqrt{\frac{\hat{p}(1-\hat{p})}{n}}} \geq z_\alpha \Rightarrow \text{Rejeição de } H_0$$

onde:

\hat{p} : é a porcentagem de germinação da amostra de n sementes

Neste ponto da apresentação da Teoria Estatística de Testes de Hipóteses deve-se notar que quando ao proceder um Teste de Significância corre-se o risco de cometer tanto Erro Tipo I, quanto o Erro Tipo II com uma probabilidade β , só que este risco (esta probabilidade β) é totalmente descontrolada: somente se controla a probabilidade α do Erro Tipo I.

Já nos Testes de Hipóteses baseados no Teorema de Neyman e Pearson, tanto o α quanto o β são controlados: o usuário determina à priori o valor que ele admite para o α , e sabe que o β está acontecendo no menor valor possível para aquele α escolhido. Usualmente não se sabe o valor de β , que é uma função da verdadeira porcentagem de germinação p do lote e da amostra, permanecendo desta foram, ainda sem solução uma parte do problema. Observe que a Curva Característica de Operação do teste daria os valores de β para cada valor possível da porcentagem p de germinação do lote, se este valor p fosse conhecido.

Como p não é conhecido, uma solução seria calcular o tamanho n da amostra necessário para que tanto o α quanto o β alcançassem níveis pré-fixados (por exemplo $\alpha=\beta=5\%$ se $p=p_0$, para α , e $p=p_1$ para β . Este valor de n é dado por:

$$\hat{p} (1-\hat{p}) \frac{(z_{\beta} - z_{\alpha})^2}{(p_1 - p_0)^2}$$

Este procedimento é forçosamente sequencial, pois depende do valor amostral de p . Assim que o valor de n alcançar, ou ultrapassar, o valor dado pela expressão acima, pode-se parar de amostrar e tomar uma decisão (aceitando ou rejeitando H_0): se H_0 é rejeitada corre-se o risco α dela ter sido rejeitada erroneamente, e se H_0 é aceita, corre-se um risco β de H_0 ter sido aceita quando dever-se-ia rejeitá-la.

Observa-se então que a teoria de Neyman e Pearson (1933), que a princípio trabalha em amostra de tamanho fixo, pode levar à procedimentos seqüenciais de amostragem em certos casos, como este apresentado acima .

Uma questão surge naturalmente quando uma amostragem sequencial é considerada: Qual o tamanho da amostra necessário para se tomar uma decisão ? Há necessidade de se considerar mais uma vez a situação de ensaiar sequencialmente uma amostra de sementes quanto a porcentagem de germinação: O número n de sementes necessário para se tomar uma decisão é função da quantidade:

$$\hat{p} (1 - \hat{p}) \frac{(z_\beta - z_\alpha)^2}{(p_1 - p_0)^2}$$

Enquanto essa quantidade for maior do que o número de sementes já ensaiadas, deve-se continuar amostrando (ensaiando). Assim que a quantidade acima se tornar igual ou menor do que o número de sementes já ensaiadas, pára-se de ensaiar (amostrar) e finalmente toma-se uma decisão. \hat{p} é uma variável aleatória, pois varia estocasticamente de uma amostra de semente para outra. Logo n , o número de sementes necessário para se tomar uma decisão quanto ao lote, é também uma variável aleatória. Porém, enquanto \hat{p} tem uma distribuição normal aproximada para amostras grandes, n tem uma distribuição

de probabilidade um tanto complicada. Dessa distribuição, o primeiro e maior interesse é conhecer a média $E(n)$, ou seja, o tamanho médio de amostra nesta amostragem sequencial, que é variável de lote para lote. O tamanho médio de amostra $E(n)$ informará quantas sementes em média serão necessárias para finalmente se tomar uma decisão quanto a germinação do lote.

Em testes de hipóteses envolvendo sementes, três elementos então devem ser considerados: As probabilidades α e β de se tomar decisões erradas, (que prejudicam tanto o produtor / vendedor da semente quanto seu consumidor / comprador), e o tamanho da amostra utilizada. O controle do α e do β podem ser satisfatoriamente feitos utilizando a teoria de Neyman e Pearson, mas um resultado devido a Wald e Wolfowitz (1948) mostra que testes seqüenciais de hipóteses (baseados no Teste Sequencial da Razão de Probabilidade (TSRP) desenvolvido por Wald (1947)), além de ainda permitirem o controle satisfatório de α e β , reduzem à um mínimo o tamanho médio de amostra necessário para se tomar uma decisão, quando comparado com testes de hipóteses que usam amostras de tamanho fixo. Esta otimização do TSRP o tem introduzido em controle de qualidade de sementes como uma alternativa vantajosa para os procedimentos usuais que usam amostras de tamanho fixo.

2.4.4 Teste sequencial da razão de probabilidade

A teoria desenvolvida por Wald (1947) é bastante geral, podendo ser aplicada em muitas situações diferentes. Ele assume que os dados que estão sendo analisados são coletados como uma seqüência de variáveis aleatórias X_1, X_2, X_3, \dots , e que finalmente deseja-se decidir entre duas hipóteses, H_0 e H_1 , onde H_0 afirma que os dados (a variável X sob estudo) tem uma (ou mais) característica especificada por um parâmetro θ (ou mais de um), que ocorre com o valor θ_0 e enquanto H_1 especifica θ_1 .

A verossimilhança (que é probabilidade se a variável for discreta e é a densidade de probabilidade se a variável for contínua) da ocorrência dos valores x_1, x_2, \dots, x_n para uma seqüência de n observações da variável estudada, é anotada $p(x_1, x_2, \dots, x_n; \theta_0)$ se o parâmetro θ vale θ_0 e $p(x_1, x_2, \dots, x_n; \theta_1)$ se θ vale θ_1 . Estabelecido isto, o TSRP de Wald determina que, em qualquer estágio da amostragem sequencial, onde já se coletou uma amostra de tamanho n , se:

$$(i) \quad \frac{p(x_1, x_2, \dots, x_n; \theta_1)}{p(x_1, x_2, \dots, x_n; \theta_0)} \geq A$$

então a amostragem deve ser cessada e deve-se rejeitar H_0 (e aceitar H_1).

$$(ii) \quad \frac{p(x_1, x_2, \dots, x_n; \theta_1)}{p(x_1, x_2, \dots, x_n; \theta_0)} \leq B$$

então a amostragem deve ser cessada e deve-se rejeitar H_1 (e aceitar H_0).

$$(iii) \quad A < \frac{p(x_1, x_2, \dots, x_n; \theta_1)}{p(x_1, x_2, \dots, x_n; \theta_0)} < B$$

então continue amostrando sequencialmente, isto é, observe o valor x_{n+1} da variável sob estudo.

As constantes A e B são determinadas de tal maneira que as probabilidades de se cometer os erros tipo I e tipo II sejam respectivamente α e β , valores pré-definidos pelo pesquisador/usuário:

$$\text{Prob \{Rejeitar } H_0 \text{ sendo } H_0 \text{ verdade\}} = \alpha$$

$$\text{Prob \{Rejeitar } H_1 \text{ sendo } H_1 \text{ verdade\}} = \beta$$

Pela definição acima, pode-se observar que o TSRP prescreve uma amostragem sequencial com tamanho de amostra indefinida (uma amostragem sequencial “aberta”). Isto pode ser incômodo ou mesmo indesejável, pois, quantos individuais da população sob estudo será amostrado? Num TSRP, o tamanho da amostra é também uma variável aleatória, pois trata-se de um procedimento sequencial (é interessante estudar o tamanho médio $E(n)$ da amostra em função do parâmetro θ . Esta função pode denominar-se Tamanho Médio de Amostra $TMA(\theta)$. Em alguma situação específica, o tamanho da amostra pode ser demasiadamente grande. Apesar de que é possível demonstrar que toda amostragem sequencial determinada pelo TSRP termina (isto é, não será indefinidamente grande, mas, para algum valor de n , ela cessará), procedimentos truncados tem sido

considerados (Wald, 1947; Ellis e Whitehead, 1987), onde um número máximo de elementos amostrados é imposto.

Para esclarecer a aplicação desta teoria na área de sementes, considere o parâmetro porcentagem p de germinação de um lote de sementes. Deseja-se decidir entre dois valores para p : ou o lote está com uma porcentagem de germinação p_0 abaixo do desejado ou está com uma porcentagem p_1 boa. Para evitar que o ensaio de germinação seja feito semente-á-semente, amostram-se sequencialmente grupos de sementes de tamanho m . O desenvolvimento do TSRP para esta situação determina em que cada grupo amostrado conte-se o número de sementes germinadas (X_1 para o primeiro grupo, X_2 para o segundo, etc..) e compare com dois limites de decisão: l_i , limite inferior e l_s , limite superior. Se para um dado tamanho n de amostra, oriundos de k grupos de m sementes, isto é, $n=mk$, o total acumulado $\sum_{i=1}^k X_i$ de sementes que germinam é igual ou menor do que l_i , então toma-se a decisão de rejeitar H_1 e aceitar H_0 , considerando então o lote com porcentagem de germinação abaixo do desejado. Se $\sum_{i=1}^k X_i$ é igual ou maior do que l_s , rejeita-se H_0 considerando o lote como aprovado quanto a porcentagem de germinação. Se $l_i < \sum_{i=1}^k X_i < l_s$, continua-se amostrando. Para o estudo da porcentagem de germinação de sementes pode-se demonstrar os limites l_i , l_s são funções lineares de n , segundo as fórmulas:

$$l_i = b + an \quad e \quad l_s = c + an$$

$$a = \frac{\text{Ln} \frac{1-p_0}{1-p_1}}{\text{Ln} \frac{p_1(1-p_0)}{p_0(1-p_1)}}, \quad b = \frac{\text{Ln} \frac{\beta}{1-\alpha}}{\text{Ln} \frac{p_1(1-p_0)}{p_0(1-p_1)}} \quad e \quad c = \frac{\text{Ln} \frac{1-\beta}{\alpha}}{\text{Ln} \frac{p_1(1-p_0)}{p_0(1-p_1)}}$$

O estudo do tamanho médio de amostra para um TSRP para a porcentagem de germinação de sementes em função de p ($TMA(p)$) pode ser feito a partir da expressão:

$$TMA(p) = \frac{P(p) \cdot (b-c) + c}{p-a}$$

Onde $P(p) = \frac{\left(\frac{1-\beta}{\alpha}\right)^W - 1}{\left(\frac{1-\beta}{\alpha}\right)^W - \left(\frac{\beta}{1-\alpha}\right)^W}$, é a probabilidade de aceitação de $H_0: p=p_0$.

Os valores de p e W estão associados pela expressão:

$$p = \frac{1 - \left(\frac{1-p_1}{1-p_0}\right)^W}{\left(\frac{p_1}{p_0}\right)^W - \left(\frac{1-p_1}{1-p_0}\right)^W}$$

Uma tabela com os valores de $TMA(p)$ em função de p pode ser obtida atribuindo-se valores à W num intervalo adequado, o que é um expediente matemático para facilitar os cálculos.

Como visto anteriormente, às vezes é necessário garantir que o tamanho da amostra de sementes não ultrapassará um determinado valor $n_{m\acute{a}x}$. Neste caso,

procedimentos seqüenciais truncados podem ser usados, como por exemplo aqueles tratados em Ellis e Whitehead (1987).

Finalmente, os conceitos de α e β podem ser generalizados também aqui em amostragem sequencial usando o TSRP de Wald como feito anteriormente, usando exatamente a função Prob {aceitação H_0 dado a porcentagem p de germinação do lote}. As fórmulas para construir esta função são um tanto complexas e não estão apresentadas aqui. Esta função pode ser um critério útil para comparar procedimentos que testam qualidade de sementes.

2.5 Amostragem sequencial no controle de qualidade de sementes

A redução dos custos do processo produtivo, ou seja, evitar gastos adicionais com lotes ruins, através da obtenção de amostras representativas do lote sempre foi o objetivo do processo de amostragem. Esta redução se tornará cada vez mais provável se o processo possibilitar o emprego de amostras de tamanho variável em função da qualidade do lote e os testes possibilitarem que as sementes sejam prontamente avaliadas, evitando assim processos subsequentes de beneficiamento e armazenamento de lotes que se encontram abaixo do padrão. A importância da amostragem sequencial neste contexto, segundo Legatt (1946), está na possibilidade de redução do tamanho da amostra do teste, igualdade de riscos nas tomadas de decisão e confiança nos dados obtidos.

Resultados consistentes da aplicação do método em sementes foram desenvolvidos por Bányai (1978) trabalhando com planos seqüenciais para detecção de mistura varietal em sementes de *Trifolium pratense*. O autor concluiu que é inviável a utilização de planos de amostra fixo em função do elevadíssimo tamanho da amostra. Este procedimento torna-se ainda mais inviável em métodos que envolvem bases eletroforéticas de detecção de misturas varietais devido aos altos custos. Neste caso, o emprego da amostragem sequencial possibilita uma diminuição no tamanho médio da amostra, além de um ajuste dos riscos de aceitação e rejeição indevidas de lotes.

Estas características do plano sequencial fez Bould (1984) alertar ao comitê de estatística da ISTA (International Seed Testing Association) da necessidade de obtenção de tabelas de tolerância para testes rápidos, como tetrazólio, testes envolvendo eletroforese e raio-X. O alto custo desses testes levou o comitê a um estudo para redução do tamanho da amostra sem levar a uma baixa precisão. Uma possível solução é o uso da amostragem sequencial, mas um problema surge em função da necessidade do conhecimento do método e de técnicas estatísticas mais avançadas fazendo desta ferramenta, ainda pouco provável de ser utilizado na rotina dos laboratórios.

Uma primeira tentativa de associar testes rápidos ao plano de amostragem sequencial surgiu do trabalho de Jackish, Lindner e Sieg (1984), utilizando a metodologia do ácido de fucsina. Este trabalho constatou uma redução na amostra de 400 sementes do plano fixo para 100 no plano sequencial. Lotes com baixa e alta capacidade germinativa apresentaram valores médios de amostras menores em comparação aos encontrados em

lotes de capacidade germinativa intermediária. Os mesmos autores observaram que os fatores que influenciam os métodos amostrais atuais agiram de maneira semelhante nos planos seqüenciais.

Bányai (1987) discute a possibilidade de organização de um grupo para introdução de planos de amostragem seqüenciais em testes bioquímicos para a determinação da viabilidade de sementes. Após este período, o desenvolvimento de planos seqüenciais cresceu com o uso em testes de pureza e germinação. Bányai (1992) relata o importante progresso feito pelo grupo de amostragem sequencial, com trabalhos concentrados na tentativa de diminuição dos riscos do plano sequencial. O grupo estuda o desenvolvimento do plano de amostragem sequencial truncado e triangular na expectativa que essas variações do plano reduzam o tamanho da amostra. Com este intento, Ellis e Whitehead (1987) discutem uma variação do plano sequencial "aberto", utilizando procedimentos triangulares e truncados para testes de sementes, fazendo um comparativo do plano sequencial com planos de amostra fixo. Salientam a importância de desenvolvimento de testes rápidos, para potencialmente serem aplicados em testes seqüenciais sobrepondo os planos de amostra fixo. Concluíram no trabalho que a escolha entre o truncamento e o teste triangular dependem dos valores de p ou porcentagem de germinação no lote. Os limites de aceitação e rejeição do teste sequencial triangular, segundo eles, são inicialmente muito afastados, quando comparados ao truncamento. Isso faz com que nas primeiras amostras seja difícil uma tomada de decisão quanto a qualidade

do lote. No método truncado, o término do teste ocorre quando o número de sementes testadas é igual a 400 sementes, correspondente ao plano de amostra fixo.

Ellis, Hong e Roberts (1985) relataram o tradicional uso de amostras de tamanho fixo para testes de viabilidade de sementes, embora o IBPGR (1985) recomende procedimentos alternativos como a amostragem sequencial para monitoramento da viabilidade. Esses procedimentos, não baseados em tamanhos de amostras pré-determinados, são dependentes da qualidade do lote cuja germinação pretende-se estudar.

Dodge (1972) ressalta a dificuldade de determinar os melhores parâmetros para o desenvolvimento da amostragem sequencial. O mesmo autor diz que a seleção dos melhores parâmetros implica em um conhecimento econômico do efeito da amostragem, ressaltando a necessidade da avaliação do erro tipo I (risco do produtor) e erro tipo II (risco do consumidor). Para Jackisch, Lindner e Sieg (1984) o controle de qualidade com base em planos amostrais deve-se apoiar nos valores da curva característica de operação, no sentido de controlar os riscos do produtor e do consumidor e da curva de tamanho médio de amostra nas tomadas de decisão.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Sementes da Escola Superior de Agricultura de Lavras-MG no período de julho de 1993 a maio de 1994. Foram coletadas amostras de nove lotes de diferentes materiais genéticos de firmas produtoras (Cargill, Pioneer, Mogiana, Fundação de apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão e EMBRAPA) de sementes de milho, que foram posteriormente classificadas por peneiras e homogeneizadas para obtenção das amostra de trabalho.

Para a caracterização do perfil dos lotes foi determinado o grau de umidade, a germinação pelo teste padrão, a emergência de plântulas (campo), emergência sob condições controladas (bandeja) e potencial de germinação pelo teste de tetrazólio.

3.1 Perfil das amostras dos lotes

3.1.1 Determinação do grau de umidade

O grau de umidade das sementes foi determinado pelo método de estufa à $105\pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Foram utilizadas duas sub-amostras de 10 g representativas de cada lote, acondicionadas em recipientes de alumínio e colocadas em estufa elétrica de desidratação, sem circulação forçada. Passado o tempo de 24 horas, foram retiradas da estufa e pesadas. O grau de umidade foi expresso em porcentagem na base úmida.

3.1.2 Teste padrão de germinação

Para a determinação da porcentagem de germinação foram utilizadas oito repetições de 50 sementes, perfazendo um total de 400 sementes por lote. As sementes foram semeadas em papel toalha tipo "Germitest", umedecido com água na proporção 3:1, relação volume de água por peso do papel, em sistema de rolo. Posteriormente os rolos foram dispostos em germinador tipo Mangeldorf, marca Biomatic à temperatura regulada de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. As avaliações foram feitas de acordo com as RAS, Brasil (1992) e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais com contagem única aos sete dias.

3.1.3 Teste de emergência de plântulas

Amostras de nove lotes foram semeados no dia 25/01/94 em campo anteriormente cultivado com a cultura do milho. Cada parcela foi constituída por uma linha de 2 metros de comprimento, onde foram distribuídas 50 sementes espaçadas de 0,04 m, em sulcos de 0,05 m de profundidade sendo a distância entre linhas de 0,50 m. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com oito repetições de 50 sementes. Foram computadas as plântulas emergidas aos 7 e 15 dias após semeadura e o resultado foi expresso em porcentagem

3.1.4 Emergência sob condições controladas

Em bandejas plásticas de 41 x 35 x 7 cm as sementes dos nove lotes foram semeadas sob substrato contendo areia e terra na proporção 3:1, onde a umidade foi ajustada para 60% da capacidade de campo. Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes, semeadas a uma profundidade média de 3 cm. Posteriormente as bandejas foram levadas a câmara de crescimento à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. As avaliações foram efetuadas aos 7 e 15 dias após semeadura, e o resultado expresso em porcentagem de plântulas emergidas.

3.1.5 Teste de tetrazólio

Após embebição à temperatura de 25°C, em papel toalha umedecido por 12 horas, as sementes foram seccionadas longitudinalmente através do eixo embrionário, com auxílio de um bisturi, sem no entanto deixar que as duas metades se separassem. Posteriormente as sementes seccionadas foram imersas em solução 0,1% do sal 2,3,5 trifenil tetrazólio por 4 horas, à temperatura de 35°C. Após esse período, foram feitas avaliações individuais sob lupa estereoscópica, separando sementes viáveis de inviáveis. O resultado foi expresso em porcentagem de sementes viáveis segundo metodologia proposta por Moore (1959).

3.1.6 Teste de sanidade

Para avaliação da sanidade, as sementes foram submetidas a incubação pelo método de papel de filtro "Blotter Test" com congelamento, segundo as prescrições das RAS, Brasil (1992) para sementes de milho. Foram utilizadas amostras de 400 sementes, semeadas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro umedecidos com água destilada e autoclavada. Em seguida, as placas foram colocadas em câmara de incubação sob regime de luz alternado de 12 horas de luz negra (NUV) e 12 horas no escuro à temperatura de $20 \pm 1^\circ\text{C}$ por período de 24 horas, após o que voltaram à câmara de incubação, permanecendo por mais 5 dias. Retiradas da câmara foram examinadas sob lupa estereoscópica, fazendo-se uma avaliação quantitativa dos fungos presentes na amostra.

3.2 Adaptação da metodologia do teste do pH do exsudato

Para desenvolvimento do teste do pH do exsudato foram utilizados nove lotes de diferentes qualidades fisiológicas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial $9 \times 4 \times 3$ (nove lotes, quatro tempos de embebição e três tipos de preparo das sementes), com 8 repetições de 50 sementes. Foram utilizadas duas temperaturas de embebição, sendo o sorteio independente para cada uma, em função disso as análises foram separadas para este fator.

A - Duas temperaturas: 25 e 30° C;

B - Quatro tempos de embebição: 15, 30, 45 e 60 minutos;

C - Três tipos de preparo das sementes;

C₁ - Íntegras;

C₂ - Seccionadas ao longo do eixo embrionário com auxílio de bisturi;

C₃ - Escarificadas mecanicamente com auxílio de lixa

Inicialmente as sementes foram embebidas individualmente em água destilada e deionizada com $\text{pH} = 7 \pm 0,2$, em bandejas plásticas com células individuais de fundo côncavo de 2,7 cm de diâmetro e 1,8 cm de profundidade. Posteriormente foram levadas à câmara BOD previamente regulada à temperatura do teste, permanecendo por período correspondente ao tempo de embebição testado.

Para o tipo de preparo das sementes, por seccionamento ao longo do eixo embrionário, foi utilizado um bisturi, separando as duas metades e colocando-as a embeber. As sementes escarificadas mecanicamente sofreram um atrito por única passagem sobre uma lixa de 20 cm de comprimento, de maneira a romper o pericarpo e expor parte do endosperma, na região da coroa. Para este preparo, cuidados foram tomados no sentido de evitar que resíduos da lixa ficassem aderidas às sementes e posteriormente viessem a alterar o pH da água de embebição. As sementes íntegras foram aquelas que não sofreram nenhum tipo de preparo e mediante exame sob lupa estereoscópica não apresentaram trincas ou amassamentos.

Após a retirada das bandejas da câmara nos tempos e temperaturas determinados pela metodologia do teste, foram adicionadas com auxílio de pipetas, uma gota da solução de fenolftaleína à 1% e carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3) à 0,8 g/l. Após adição das duas substâncias fez-se a homogeneização com auxílio de um bastão de vidro.

A avaliação foi efetuada segundo metodologia descrita por Amaral e Peske (1984) em função do desenvolvimento da coloração. A coloração rosa forte correspondeu às sementes viáveis; rosa claro, sementes viáveis correspondendo a plântulas anormais e incolor, sementes mortas. Foi utilizada a tabela de tolerância segundo as prescrições das RAS, Brasil (1992) para os valores discrepantes.

3.3 Amostragem sequencial

Os riscos α e β de se tomar decisões erradas foram pré-fixados como 5%, isto é, $\alpha=\beta=0,05$, devido 5% de probabilidade de erro ser um limiar comum.

Para sementes de milho, os valores de p_o e p_I , foram estabelecidos em 85% e 90%, respectivamente, por serem valores compatíveis com a legislação e com o mercado consumidor. O tamanho dos grupos de sementes ensaiadas sequencialmente foi fixado em 20.

No Quadro 1, estão os valores calculados para os limites inferiores (l_i) e superiores (l_s), adotando-se os números anteriormente mencionados.

Tabela 1. Valores calculados dos limites de decisão do plano de amostragem sequencial para $p_o=0,85$; $p_I=0,90$ e $\alpha=\beta=0,05$ e grupos de sementes de tamanho $m=20$. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Número de grupos de sementes testadas	Número total de sementes	Limite inferior	Limite superior
1	20	11	24
2	40	29	41
3	60	46	59
4	80	64	76
5	100	81	94
6	120	99	112
7	140	116	129
8	160	134	147
9	180	151	164
10	200	169	182
11	220	186	199
12	240	204	217
13	260	222	234
14	280	239	252
15	300	257	269
16	320	274	287
17	340	292	304
18	360	309	322
19	380	327	340
20	400	344	357

Estes limites são calculados segundo as fórmulas apresentadas na seção 2.4.4 do Capítulo 2 (“Referencial Teórico”) e um exemplo de cálculo é dado a seguir:

$$a = \frac{\frac{\text{Ln} \frac{1-0,85}{1-0,90}}{0,90(1-0,85)}}{\frac{\text{Ln} \frac{0,85}{0,85(1-0,90)}}{0,85(1-0,90)}} = 0,8764$$

$$b = \frac{\frac{\text{Ln} \frac{1-0,05}{0,05}}{0,90(1-0,85)}}{\frac{\text{Ln} \frac{0,85}{0,85(1-0,90)}}{0,85(1-0,90)}} = 6,3647 \quad c = \frac{\frac{\text{Ln} \frac{0,05}{1-0,05}}{0,90(1-0,85)}}{\frac{\text{Ln} \frac{0,85}{0,85(1-0,90)}}{0,85(1-0,90)}} = -6,3647$$

$$l_i = -6,3647 + 0,8764 n \quad e \quad l_s = +6,3647 + 0,8764 n$$

Se $n=20$ então $l_i=11$ e $l_s=24$

Se $n=40$ então $l_i=29$ e $l_s=41$, e assim por diante

Graficamente, pode ser representado, conforme Figura 1.

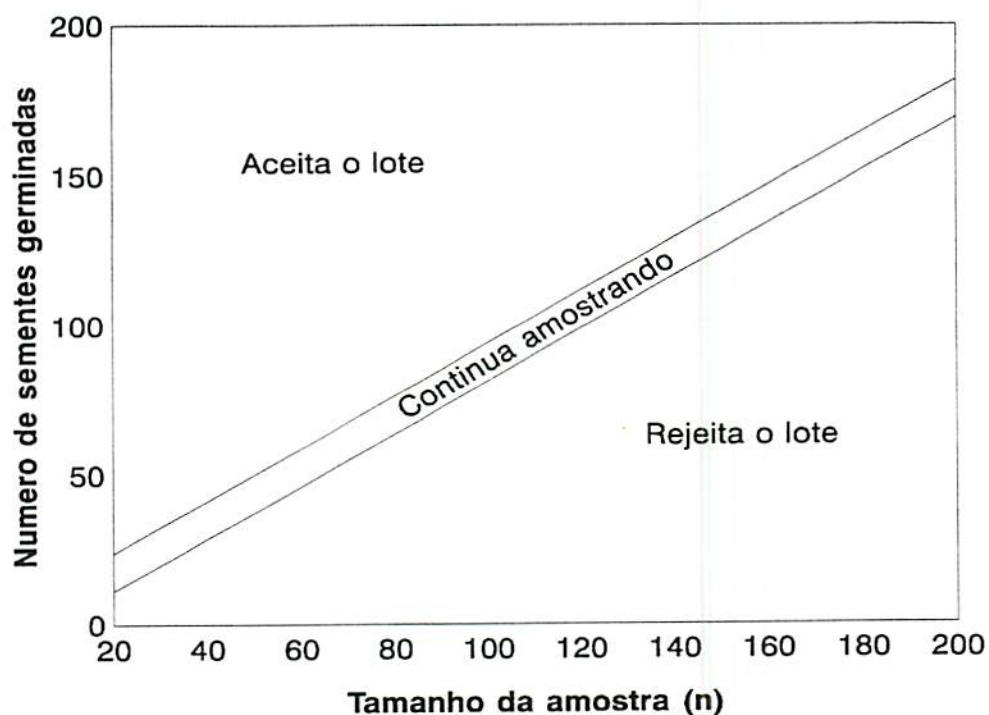


Figura 1. Linhas de decisão do plano de amostragem sequencial com parâmetros $p_o=0,85$; $p_I=0,90$ e $\alpha=\beta=0,05$. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Para os nove lotes estudados foram tomadas amostras em grupos de 20 sementes com subsequente aplicação do teste do pH do exsudato-fenolftaleína e feita a comparação do resultado com os limites de decisão do plano de amostragem sequencial. Pelo Quadro 1 e pela Figura 1 pode-se observar que, quando o número de sementes potencialmente germinadas estiver entre os dois limites, nova amostra deverá ser retirada e avaliada quanto ao seu potencial de germinação. Se estiver abaixo do limite inferior o lote deverá ser rejeitado como de qualidade inferior e se estiver acima o lote deve ser aceito como de boa qualidade.

O tamanho médio de amostra necessário para se tomar uma decisão sobre o lote usando o TSRP é dado pelas fórmulas apresentadas na seção 2.4.4 já mencionada,

atribuindo-se valores à W no intervalo de -50 à 50. Os valores calculados podem ser vistos na Quadro 2 e o comportamento do tamanho médio de amostra em função de p , a probabilidade de germinação do lote está ilustrado na Figura 2.

Tabela 2. Tamanho médio de amostra ($TMA(p)$) em função dos valores atribuídos a W no intervalo de -50 e 50. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

W	p	$P(p)$	$TMA(p)$
-50	0.9999	0.0000	51.5
-10	0.9923	0.0000	54.9
-7	0.9799	0.0000	66.5
-5	0.9336	0.0000	73.0
-1	0.9000	0.0499	243.3
1	0.8500	0.9500	216.6
2	0.8210	0.9972	114.1
3	0.7900	0.9998	73.6
4	0.7575	0.9999	53.5
5	0.7241	0.9999	41.8
6	0.6903	0.9999	34.2
7	0.6567	1.0000	28.6
8	0.6237	1.0000	25.2
9	0.5915	1.0000	22.3
10	0.5603	1.0000	20.1
20	0.3187	1.0000	11.4
30	0.1800	1.0000	9.1
40	0.1016	1.0000	8.2
50	0.0574	1.0000	7.8

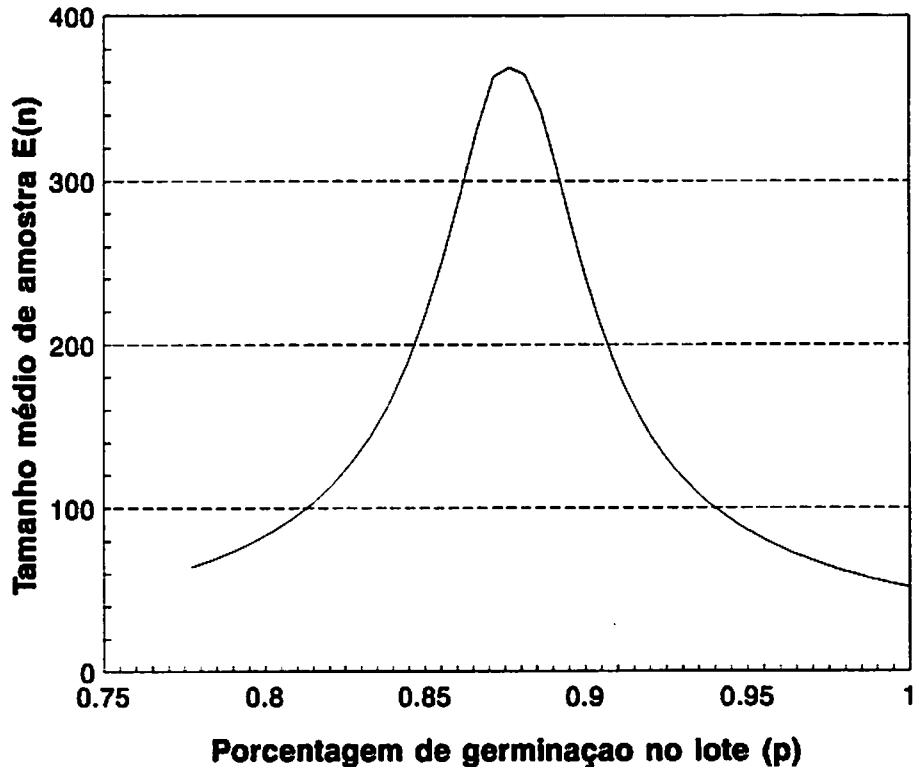


Figura 2. Curva do tamanho médio de amostra do plano de amostragem sequencial para os parâmetros $p_o=0,85$; $p_l=0,90$ e $\alpha=\beta=0,05$. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Pode ser observado na Figura 2 que o maior tamanho da amostra é esperado acontecer quando p está em torno de 0,85 e 0,90, o que é intuitivamente aceito, pois aí estão as sementes de decisão difícil. Para sementes de pior qualidade ($p < 85\%$), o tamanho médio da amostra diminui medida que p decresce (isto é, para lotes ruins é necessário menor número de sementes para se tomar uma decisão). O mesmo acontece para sementes de alta qualidade ($p > 90\%$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela tabela 1A , observa-se o resumo das análises de variância com o efeito significativo obtido pelo teste de “ F ” para todos os testes utilizados na determinação da qualidade fisiológica dos lotes.

Pode ser observado pela tabela 2A, o resumo da análise de variância referente ao potencial de germinação obtido pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína à 25°C e 30°C com o efeito significativo entre os três fatores estudados (tipo de preparo da semente, tempo de embebição e lotes). Este comportamento foi verificado tanto para a análise de variância realizada à temperatura de 25°C quanto de 30°C. Apesar da interação tripla ter sido significativa, mostrando uma relação de dependência entre os três fatores estudados, o tempo de embebição não interagiu com lotes quando se avaliou os dois fatores (tabela 2A), mostrando assim que o efeito do tempo de embebição foi semelhante para lotes de diferentes qualidades. Desta forma, a escolha do tempo de embebição que mais caracterize o estágio de deterioração de um lote de sementes, dependerá principalmente do tipo de preparo da semente.

4.1 Caracterização do perfil das amostras dos lotes

Os dados da tabela 3 indicam que todos os testes utilizados para estimar a viabilidade dos diferentes lotes de sementes de milho, detectaram diferenças na qualidade destes pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade e detectaram os lotes 1, 2 e 3 como de qualidade superior. Em relação aos lotes, aqui considerados de qualidade fisiológica intermediária, ou seja, com capacidade germinativa no intervalo de 80-90%, os diferentes testes detectaram os lotes 4, 5, 6, 8 e 9, com a ressalva de que os lotes 5 e 9 apresentaram pelo teste padrão de germinação percentual abaixo ao detectado pelos demais testes. O lote 7 foi detectado como de pior qualidade fisiológica.

Ainda na tabela 3, pode-se observar que todos os lotes apresentaram-se completamente emergidos aos sete dias após semeadura, fato este observado pelo pequeno número de plântulas que emergiram após este período (15 dias após semeadura). Provavelmente devido as condições de precipitação e temperatura terem sido favoráveis para o teste. Este resultado está de acordo com Barros e Marcos Filho (1990) ao constatarem que informações próximas entre emergência em campo e teste padrão de germinação, em termos do potencial relativo de cada lote, deve-se principalmente ao fato da emergência ter sido favorecida pelas condições favoráveis do ambiente. A mesma correspondência do teste padrão de germinação foi encontrada quando o teste foi realizado sob condições controladas (bandeja).

Tabela 3. Média dos dados do teste padrão de germinação (%), emergência de plântulas no campo aos 7 e 15 dias (%), emergência sob condições controladas (%), potencial de germinação pelo teste de tetrazólio (%) e grau de umidade (%) de sementes de milho (*Zea mays* L).ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Lotes ¹	Teste Padrão de germinação	Emergência de plântulas 7 dias	Emergência de plântulas 15 dias	Emergência sob condições control.	Potencial Tetrazólio	Grau de umidade
1	100,00 a	98,00 a	100,00 a	99,25 a	99,50 a	13,6
2	97,25 a	96,25 ab	96,25 ab	96,88 ab	98,50 a	12,8
3	96,75 a	96,50 a	97,00 a	94,75 abc	97,50 a	13,4
4	86,75 bc	87,00 cd	87,00 cd	87,38 ade	88,00 bcd	13,8
5	81,12 cd	84,50 cd	85,25 cd	85,38 de	85,00 cd	15,2
6	88,75 bc	85,00 cd	84,50 cd	84,38 de	88,50 bcd	13,3
7	76,00 d	81,25 d	81,25 d	80,75 e	84,00 d	13,8
8	89,00 b	88,75 bcd	88,75 bcd	89,50 cd	93,00 abc	12,7
9	86,75 bc	90,00 abc	90,00 abc	92,00 bcd	93,50 ab	16,2

1 - Nas colunas, médias seguidas por letras distintas diferem entre si ($P < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Em relação ao grau de umidade dos lotes, obtido antes da execução dos demais testes (tabela 3), pode ser observado que estes, a exceção dos lotes 5 e 9, apresentaram-se uniformes quanto a essa característica. A importância desse dado está na comprovada interferência do grau de umidade nos resultados do teste do pH do exsudato-fenolftaleína principalmente quando as amostras possuem percentuais diferentes de umidade, Peske e Amaral (1986).

O potencial de germinação obtido pelo teste de tetrazólio classificou os lotes em diferentes níveis de qualidade fisiológica a exemplo dos demais testes (tabela 3). No entanto, o teste de tetrazólio apresentou um potencial de germinação pouco acima do encontrado pelo teste padrão para a maioria dos lotes, apesar dessa diferença não ter ultrapassado 5%. Para França Neto et al. (1988) diferenças de até 5% entre os testes podem ser consideradas normais, diferenças superiores podem ter como causa, entre outras, a incidência de microorganismos durante o transcorrer do teste de germinação. Segundo os autores o teste de tetrazólio é menos influenciado por tal tipo de problema. Pode ser observado que os organismos detectados em maior percentual, foram de maneira geral, os fungos de armazenamento (tabela 4), os quais provavelmente não interferem nos resultados do teste de tetrazólio tanto quanto os patogênicos. Cabe ressaltar também, que outros fatores podem ter influenciado os resultados do teste, como os citados por Moore (1969).

Tabela 4. Médias dos dados de incidência de fungos (%) nas amostras de sementes dos nove lotes testados. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Fungos	Lotes								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Alternaria alternata</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	13.0	24.0
<i>Aspergillus flavus</i>	34.5	40.0	36.5	4.5	16.5	0.0	7.0	2.0	1.7
<i>Aspergillus glaucus</i>	10.5	0.0	7.0	0.5	9.5	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0.0	0.0	0.5	0.5	1.0	0.0	4.5	0.0	0.0
<i>Aspergillus niger</i>	2.5	6.5	4.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Cephalosporium sp</i>	1.0	3.5	0.5	0.0	0.0	24.0	10.0	2.0	5.1
<i>Cladosporium sp</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	1.0	5.5	20.0
<i>Dreschlera sp</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	1.0	4.0
<i>Fusarium moniliforme</i>	4.5	6.5	3.0	0.5	1.5	19.0	21.0	16.5	18.0
<i>Penicillium sp</i>	6.0	16.5	4.0	2.5	8.5	54.3	55.0	35.0	25.7

4.2 - Potencial de germinação obtido pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína

O potencial de germinação obtido pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína para os diferentes lotes nos tratamentos com sementes íntegras, escarificadas e seccionadas ao longo do eixo e submetidos à embebição por 15 e 30 minutos à temperatura de 25°C encontra-se na tabela 5 e à 30°C na tabela 6. O tempo de 15 minutos de embebição, dentro do tratamento que envolveu a utilização de sementes íntegras não foi eficiente em detectar diferenças entre os lotes em termos de sua qualidade fisiológica pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína, tanto na temperatura de 25°C quanto de 30°C (tabela 5 e 6). É possível observar nessas tabelas que o lote 7 (de baixa qualidade) apresentou potencial de germinação pelo teste do pH do exsudato - fenolftaleína com a utilização de sementes íntegras por 15 minutos de embebição, de 95,30 e 96.50% respectivamente nas temperaturas de embebição de 25 e 30°C sendo assim caracterizados

Tabela 5 - Potencial de germinação (%) de sementes de milho (*Zea mays* L.) obtido pelo teste do pH do exsudato, sob 2 tempos de embebição (15 e 30 minutos) à temperatura de 25°C, em sementes íntegras, escarificadas fisicamente e seccionadas ao longo do eixo embrionário. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Lotes ¹	Tempo (15 minutos)			Tempo (30 minutos)		
	Sementes íntegras	Sementes escarificadas	Sementes seccionadas	Sementes íntegras	Sementes escarificadas	Sementes seccionadas
1	98,50 a	100,0 a	99,50 a	99,50 a	99,50 a	97,00 a
2	97,00 a	98,50 ab	98,00 a	97,50 ab	97,30 a	93,00 ab
3	98,00 a	98,30 ab	97,00 ab	96,50 abc	97,00 a	97,80 bc
4	96,00 a	88,50 c	88,00 cd	90,50 bcd	87,30 bc	89,30 bc
5	95,50 a	86,30 c	82,30 d	88,50 d	81,50 cd	82,00 c
6	96,50 a	91,30 bc	88,00cd	90,00 cd	89,50 b	82,50 c
7	95,30 a	78,80 d	69,50 e	85,80 d	74,50 d	74,50 d
8	89,50 a	89,50 c	89,80 bc	92,00 bcd	89,50 b	86,30 bc
9	87,30 a	89,00 c	89,50 cd	89,30 cd	87,30 bc	88,80 bc

1 - Nas colunas, médias seguidas por letras distintas diferem entre si ($P < 0,05$), pelo teste de Tukey.

como de alta qualidade por este teste nas referidas condições, enquanto que pelos demais testes foi classificado como de baixa qualidade (tabela 3). Estes valores elevados de potencial de germinação dado pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína nas condições supra citadas foi também verificado para lotes considerados de qualidade intermediária (4, 5, 6, 8 e 9) pelo teste padrão de germinação. Em lotes de alta qualidade ficou difícil avaliar esse comportamento, pois não foi possível precisar se os valores obtidos refletem o estágio de deterioração da semente ou o tempo é muito pequeno para que a exsudação ocorra. Estes resultados apresentam correspondência aos encontrados por Barros (1988) trabalhando com o teste do pH do exsudato-fenolftaleína em sementes de soja e utilizando diferentes períodos de tempo de embebição da semente, o autor não encontrou uma caracterização eficiente entre os tempos iniciais de embebição para a separação dos lotes no período de 20 e 30 minutos de embebição. Entretanto, com o período de 20 minutos, de um modo geral, os valores percentuais obtidos foram maiores, em relação aos encontrados com 30 minutos de embebição, o que, segundo Amaral e Peske (1984) evidencia a menor lixiviação do agente causador da redução do pH dos exsudatos neste tempo.

Pode ser observado pela tabela 5, que os tratamentos que envolveram sementes escarificadas e seccionadas, embebidas por 15 minutos, propiciaram a separação dos lotes de sementes em diferentes níveis de qualidade pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína, destacando os lotes 1 e 2 como de melhor qualidade e o lote 7 como pior, mostrando assim a capacidade desses tratamentos em classificar os lotes quanto a qualidade, o que não foi conseguido com sementes íntegras. Este comportamento de sementes escarificadas

e seccionadas apresentam fundamento com os encontrados por Pollock e Toole (1966) onde observaram que embriões cortados de sementes de lima, proporcionaram resultados mais precisos e eficazes em testes de embebição, do que sementes íntegras. Apesar do tratamento de sementes seccionadas ter separado os lotes em diferentes níveis de qualidade apresentando para lotes de alta qualidade e qualidade intermediária (lotes 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 e 9) valores percentuais próximos aos encontrados pelo teste padrão de germinação, o lote de pior qualidade (lote 7) teve este percentual subestimado em relação ao encontrado pelo teste padrão (tabelas 3 e 4). Este resultado do teste do pH do exsudato-fenolftaleína para lotes de pior qualidade encontra respaldo nos trabalhos de Abdul-Baki e Anderson (1973) ao comentarem a maior liberação de substâncias em sementes mais deterioradas indicando uma maior permeabilidade da membrana. Para Amaral e Peske (1984) essas substâncias seriam os íons H^+ que acidificariam o meio de embebição se traduzindo em exsudatos com coloração mais claros.

Para lotes de qualidade alta e intermediária, o teste do pH do exsudato-fenolftaleína no tempo de 15 minutos de embebição com sementes seccionadas apresenta potencial para ser usado para predizer o potencial de germinação de lotes de sementes de milho.

No tempo de 30 minutos de embebição à temperatura de $25^{\circ}C$, o potencial de germinação obtido com sementes íntegras (tabela 5), mostrou que esse tipo de preparo foi eficiente em detectar diferenças entre lotes, separando-os em três níveis de qualidade, embora em termos percentuais tenham apresentado um potencial de germinação acima do detectado pelo teste de germinação, fato este também observado no tempo de 15 minutos.

Neste mesmo tempo (30 minutos de embebição) e temperatura (25°C), sementes escarificadas propiciaram pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína uma separação dos lotes em diferentes níveis de qualidade, apresentando valores do potencial de germinação próximos aos encontrados pelo teste padrão. O melhor resultado do tempo de 30 minutos de embebição com sementes escarificadas concorda com os resultados de Peske e Amaral (1984) ao concluírem que no tempo de 30 minutos é possível estimar o potencial de germinação de lotes de sementes de soja através do teste do pH do exsudato-fenolftaleína. Para sementes seccionadas embebidas por 30 minutos o teste do pH do exsudato-fenolftaleína subestimou a percentagem de germinação dos lotes 1, 2 e 6 em relação ao detectado pelo teste padrão.

O tempo de embebição foi discutido por Mckersie e Stinson (1980) para sementes de *Lotus corniculatus*, ao mostrarem que no período inicial de embebição ocorre um rápido efluxo de substâncias das sementes, mas a partir de 30 minutos de embebição a quantidade lixiviada permanece constante. Segundo eles os períodos iniciais de embebição sofrem influência de solutos depositados nas superfícies das sementes interferindo nos resultados. Assim, Mckersie e Tomes (1980) sugerem fazer punções às sementes, diminuindo assim os efeitos dos fatores externos nos períodos iniciais da embebição, evitando também danos por embebição.

Para a embebição à 30°C (tabela 6) por 15 minutos, sementes seccionadas e escarificadas apesar de terem separado os lotes em diferentes qualidades fisiológicas pelo teste de Tukey e detectarem valores percentuais de germinação similares aos encontrados

Tabela 6 - Potencial de germinação (%) de sementes de milho (*Zea mays* L.) obtido pelo teste do pH do exsudato, sob 2 tempos de embebição (15 e 30 minutos) à temperatura de 30°C, em sementes íntegras, escarificadas fisicamente e seccionadas ao longo do eixo embrionário. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Lotes ¹	Tempo (15 minutos)			Tempo (30 minutos)		
	Sementes íntegras	Sementes escarificadas	Sementes seccionadas	Sementes íntegras	Sementes escarificadas	Sementes seccionadas
1	100,0 a	99,50 a	98,50 a	100,0 a	100,0 a	92,00 a
2	99,50 a	97,50 ab	97,00 ab	98,00 ab	96,30 ab	89,80 ab
3	99,50 a	96,00 abc	97,30 ab	97,50 abc	96,00 ab	88,80 ab
4	96,50 a	87,50 d	87,80 c	92,00 abc	87,00 c	85,00 ab
5	96,00 a	86,50 d	82,30 c	89,50 cd	84,80 c	85,30 ab
6	98,50 a	89,80 bcd	87,00 c	90,50 bcd	89,50 bc	86,00 ab
7	96,50 a	76,80 e	68,50 d	86,80 d	73,80 d	76,30 c
8	100,0 a	89,80 bcd	89,30 bc	93,00 abc	87,30 c	83,80 bc
9	97,00 a	88,30 cd	88,00 c	91,30 bcd	85,30 c	86,50 ab

1 - Nas colunas, médias seguidas por letras distintas diferem entre si ($P < 0,05$), pelo teste de Tukey.

pelo teste padrão e emergência em campo; lotes de baixa qualidade (lote 7) neste tipo de tratamento tiveram seu percentual de germinação subestimado em ao teste padrão, fato este também observado na temperatura de 25°C. O comportamento de sementes escarificadas à 30°C foi semelhante ao encontrado na temperatura de 25°C com a diferença de que a classificação dos lotes dada pelo teste de Tukey não foi igual a detectada pelo teste padrão de germinação.

Na temperatura de 30°C, sementes escarificadas e submetidas a 30 minutos de embebição, apresentaram pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína valores percentuais próximos aos encontrados pelo teste padrão de germinação, apesar da classificação em diferentes níveis de qualidade feita pelo teste de Tukey não ter sido a mesma. Para sementes seccionadas, o teste de Tukey classificou os lotes em três níveis de qualidade quando da utilização do teste do pH do exsudato-fenolftaleína, assim como quando da utilização do teste padrão de germinação, apesar do teste do pH do exsudato-fenolftaleína, principalmente para lotes de alta qualidade (lotes 1, 2 e 3) ter seus percentuais subestimados. Esse comportamento pode ter sido em função do aumento da temperatura e o seccionamento da semente terem favorecido a perda de metabólicos. Isso pode ser suportado por Holtzman e Novikoff (1985) que mostraram que o aumento da temperatura aumenta a fluidez da membrana citoplasmática, permitindo que a água atravesse a membrana com maior facilidade. Outro aspecto ressaltado por Popinigis (1985) é a importância da superfície de contato semente/água, o autor comenta que, outros fatores sendo constantes, a velocidade de embebição é proporcional à superfície de contato entre a semente e a água.

No tempo de embebição de 45 minutos à 25°C (tabela 7), o tratamento de sementes íntegras foi caracterizado pelo teste de Tukey de maneira similar ao teste padrão de germinação com a ressalva de não ter separado o lote 7 como o de pior qualidade, o qual foi igualado estatisticamente aos lotes 4,5,6,8 e 9. Uma outra consequência importante do tempo de 45 minutos, foi ter apresentado para sementes íntegras um potencial de germinação de 86,5% considerado acima do padrão mínimo de qualidade, enquanto pelo teste padrão de germinação ele seria descartado para sementes. Para o tratamento de sementes escarificadas e seccionadas e submetidas a embebição por 45 minutos, lotes de alta qualidade apresentaram potenciais de germinação subestimados pelo teste de fenolftaleína em relação ao teste padrão. Pode ser observado que no lote 2 sementes seccionadas apresentaram um potencial de 93% pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína, enquanto que pelo teste padrão foi de 97,25%. No tempo de 60 minutos de embebição para este mesmo tratamento de sementes, foi observado que o lote 7 teve seu potencial de germinação superestimado pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína. Esses resultados contradizem Amaral e Peske (1984), os quais afirmaram que o aumento do tempo de embebição aumenta a lixiviação dos íons H^+ e conseqüentemente diminuiu o pH do meio, tornando o exsudato incolor, porém suportam os de Loomis e Smith (1980) que afirmaram que um tempo excessivo de embebição poderá propiciar uma composição diferenciada do exsudato, uma vez que no processo inicial de embebição as sementes lixiviam maiores quantidades de íons H^+ , porém posteriormente íons Ca, Mg, Mn, K e Cl são lixiviados, ocasionando uma elevação do pH do meio. Ainda assim Abdul-Baki e Anderson (1970) confirmaram a hipótese de que o aumento do tempo de embebição

Tabela 7. Potencial de germinação (%) de sementes de milho (*Zea mays*, L.) obtido pelo teste do pH do exsudato, sob 2 tempos de embebição (45 e 60 minutos) à temperatura de 25°C, em sementes íntegras, escarificadas fisicamente e seccionadas ao longo do eixo embrionário. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Lotes ¹	Tempo (45 minutos)			Tempo (60 minutos)		
	Sementes íntegras	Sementes escarificadas	Sementes seccionadas	Sementes íntegras	Sementes escarificadas	Sementes seccionadas
1	97,00 a	98,50 a	96,50 a	95,50 a	96,75 ab	97,80 a
2	96,30 a	96,80 ab	93,00 ab	94,50 ab	98,50 a	92,30 ab
3	94,50 ab	97,00 ab	89,00 bc	89,30 abc	98,00 a	89,80 bc
4	87,50 bc	88,30 c	85,50 c	87,50 bcd	88,00 cd	87,30 bcd
5	86,50 c	83,50 c	82,50 c	74,50 ef	88,80 cd	84,50 cd
6	88,30 bc	90,80 bc	83,00 c	82,30 cd	92,30 abc	86,50 bcd
7	85,00 c	75,00 d	74,30 d	68,80 f	81,50 d	82,00 d
8	91,00 abc	89,80 bc	83,50 c	84,50 cd	91,30 abc	87,30 bcd
9	85,50 c	88,30 c	82,50 c	81,50 de	90,50 bc	85,80 bcd

1 - Nas colunas, médias seguidas por letras distintas diferem entre si ($P < 0,05$), pelo teste de Tukey.

aumenta a lixiviação de açúcares (glicose, sacarose e frutose) e que essa lixiviação é função do tipo de injúria da semente, portanto este aumento poderá ocasionar uma elevação do pH do meio de embebição. Estes resultados discordam de Mckersie e Stinson (1980) ao afirmarem que em sementes de *Lotus* após 30 minutos de embebição o efluxo de substancias das sementes permanece constante.

Para o tempo de 45 minutos de embebição, sementes íntegras apresentaram o mesmo comportamento no teste do pH do exsudato-fenolftaleína tanto à 25°C quanto a 30°C (tabela 8). Os lotes 4, 8 e 9 em sementes escarificadas e 4, 6, 8 e 9 em sementes seccionadas, tiveram seus potenciais de germinação não só subestimados em relação ao teste padrão de germinação como abaixo do padrão mínimo para sementes de milho estabelecido pelas Normas, Padrões e Procedimentos para Produção de Sementes Básicas, Certificadas e Fiscalizadas, Brasil (1985) sendo pelo tratamento descartado para semente. Este aumento de lixiviação de sementes de qualidade intermediária está relacionada ao processo de embebição que segundo Mayber e Poljakoff Mayber (1975) se processa mais rapidamente em altas temperaturas devido a maior viscosidade da água e sua maior energia cinética, que de acordo com Holtzman e Novikoff (1985) ocorre um aumento da fluidez da membrana, permitindo assim que a água atravessasse com maior facilidade. Para Vieira e Carvalho (1994) o aumento de absorção de água pela semente é atribuído a um aumento da permeabilidade da membrana ocasionado pelo processo de deterioração. Ainda na tabela 8 pode ser observado resultados semelhantes, no tempo de 60 minutos de embebição no que respeito ao descarte de lotes, onde foi verificado para os lotes 6 e 9 de sementes íntegras qe estes se encontravam fora do padrão mínimo.Sementes escarificadas

Tabela 8. Potencial de germinação (%) de sementes de milho (*Zea mays*, L.) obtido pelo teste do pH do exsudato, sob 2 tempos de embebição (45 e 60 minutos) à temperatura de 30°C, em sementes íntegras, escarificadas fisicamente e seccionadas ao longo do eixo embrionário. ESAL, Lavras-MG, 1993/94

Lotes ¹	Tempo (45 minutos)			Tempo (60 minutos)		
	Sementes íntegras	Sementes escarificadas	Sementes seccionadas	Sementes íntegras	Sementes escarificadas	Sementes seccionadas
1	96,30 a	98,50 a	94,75 a	92,75 a	97,50 a	96,30 a
2	94,00 ab	93,80 ab	88,50 ab	89,50 ab	91,50 ab	92,50 ab
3	90,50 abc	97,30 a	88,30 ab	86,50 ab	96,30 a	90,50 ab
4	89,80 abc	84,80 c	83,80 b	88,80 ab	85,50 b	86,00 bc
5	85,50 cd	83,50 c	83,80 b	74,50 c	84,50 b	85,50 bc
6	87,80 bcd	87,80 bc	83,00 b	83,50 b	85,80 b	88,30 abc
7	80,50 d	70,80 d	71,80 c	73,00 c	74,80 c	81,30 c
8	91,80 abc	84,80 c	82,00 b	87,50 ab	87,50 b	85,30 bc
9	92,80 abc	82,30 c	83,30 b	82,80 b	85,30 b	85,50 bc

1 - Nas colunas, médias seguidas por letras distintas diferem entre si ($P < 0,05$), pelo teste de Tukey.

apresentaram classificação próxima ao teste padrão, apesar do teste de Tukey ter apresentado menor sensibilidade em detectar diferentes níveis de qualidade. Neste mesmo tempo e temperatura (tabela 8) sementes seccionadas tiveram valores percentuais subestimados em relação ao teste padrão para lotes de alta qualidade (lotes, 1,2 e 3)

Esta tendência de lotes de alta e baixa qualidade serem subestimados e superestimados respectivamente quando comparado ao teste padrão de germinação com o aumento dos tempos de embebição, ocorreu principalmente nos tratamentos de sementes íntegras e seccionadas. No tratamento onde se utilizou sementes escarificadas, esta tendência não ocorreu com frequência, apesar do teste do pH do exsudato-fenolftaleína de uma maneira geral, ter subestimado os valores percentuais obtidos pela emergência

Na tabela 9 encontra-se os coeficientes de correlação do teste de fenolftaleína para todos os tipos de preparo das sementes com o teste padrão de germinação. O teste mostrou de maneira geral uma alta correlação para todos os tratamentos estudados, sendo que a maior correlação ($r=0,9964$) foi encontrada quando o teste foi realizado com sementes escarificadas no tempo de 30 minutos de embebição. Este resultado concorda com os encontrados por Amaral e Peske (1984) ao verificarem maior correlação do teste de fenolftaleína no tempo de 30 minutos de embebição para sementes de soja, mas apresentam uma variação aos encontrados por Peske et al. (1990) que obtiveram uma maior correlação para sementes de milho no tempo de 20 minutos de embebição. Nos resultados onde a correlação apresentou coeficientes de correlação menores ($r<0,85$) é importante mencionar que apesar dos tratamento de pré-preparo do teste do pH do exsudato-fenolftaleína, terem separado os lotes em diferentes níveis de qualidade, não

apresentaram uma correspondência em termos de valores percentuais quando comparado ao teste padrão de germinação. Já sementes escarificadas não só corresponderam em termos de classificação dos lotes em diferentes níveis em relação aos obtidos pelo teste padrão, como em valores percentuais.

Tabela 9. Coeficientes de correlação “r” entre o Teste Padrão de Germinação e potencial de germinação obtido pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína para os nove lotes de sementes de milho. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Tipo de preparo da semente	Teste do pH do exsudato		Coeficiente de correlação
		Tempo de embebição	
Escarificadas		15	0,9488
		30	0,9964
		45	0,9352
		60	0,9143
Íntegras		15	0,8589
		30	0,8702
		45	0,8246
		60	0,8152
Seccionadas		15	0,8668
		30	0,8229
		45	0,8426
		60	0,8224

4.3 Amostragem sequencial

Pode ser observado pela tabela 10 que, a exceção do lote 5 que necessitou de 20 tomadas de amostras consecutivas para tomar uma decisão a respeito do seu destino, perfazendo um total de 400 sementes, todos os demais lotes necessitaram de um número

de sementes menor ao exigido pelo tamanho de amostra fixo $n = 400$. A necessidade de menor tamanho da amostra aconteceu principalmente para lotes que apresentaram potencial de germinação abaixo do padrão estabelecido pela Comissão Estadual de Sementes e Mudas de Minas Gerais (Ministério da Agricultura, 1985), que é de 85%, como o lote 7 e para lotes que se encontravam acima do padrão de 85% como os lotes 1, 2 e 3. Estes resultados refletem os encontrados por Jackish, Lindner e Sieg (1984) que conseguiram uma redução do tamanho da amostra com o plano de amostragem sequencial em sementes de cereais, empregando-se o método de fucsina na determinação do potencial de germinação de sementes, principalmente quando as amostras estavam muito acima ou muito abaixo do padrão de qualidade.

Tabela 10. Número de sementes necessário no plano de amostragem sequencial para a decisão de aceitar ou rejeitar o lote, em função do potencial de germinação determinado pelo teste do pH do exsudato-fenolftaleína. ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Lotes	Teste do pH	Total de sementes testadas	Resultado
1	99,50	120	aceito
2	97,30	160	aceito
3	97,00	120	aceito
4	87,30	360	aceito
5	81,50	400	rejeitado
6	89,50	340	aceito
7	74,50	180	rejeitado
8	89,50	280	aceito
9	87,30	380	aceito

Os lotes que apresentavam potencial de germinação próximo do padrão estadual de 85%, o número de sementes necessário para se obter uma decisão confiável sobre o destino dos lotes foi maior que para os demais lotes. Para o lote 5, foi necessário avaliar 400 sementes perfazendo um total de 20 amostras retiradas, sendo que ao final do teste nenhuma decisão havia sido tomada, caindo sempre na região de indecisão (entre os dois limites de controle). Como optou-se pelo truncamento do teste, quando o número de sementes atingiu 400 sementes o lote 5 foi rejeitado (potencial de germinação de 81.50%, ou seja, abaixo do padrão).

Os lotes 4, 6, 8 e 9, cujo potencial de germinação encontrava-se entre 85 e 90% necessitaram de uma amostra próxima de 400 sementes. (tabela 10 e figura 2)

Um critério decisivo para verificar a confiabilidade do teste sequencial empregado quando comparado ao atualmente utilizado, teste de tamanho fixo ($n=400$ sementes), segundo Bányai (1978) é a curva característica de operação. Esta curva representa a probabilidade de aceitação de um lote em função de sua verdadeira porcentagem de germinação. Na tabela 11 estão os valores calculados da curva característica de operação para os dois planos de amostragem. A tabela mostra que quando a verdadeira, capacidade germinativa do lote é de 92% é aceito sem restrições com probabilidades de acerto altas. Lotes com germinação de 84,44% podem ser aceitos para sementes numa amostragem de tamanho fixo em 37,83% dos casos, ainda que se encontrem abaixo do padrão para germinação estabelecido pelo estado para sementes certificadas/fiscalizadas, ao passo que pelo processo sequencial a probabilidade de aceitação é de apenas 2,84%. Esta comparação dos planos já demonstrada por Ellis e

Whitehead (1987) apontam que o ponto crítico do plano de amostragem de tamanho fixo, ou seja, onde os riscos do produtor e consumidor são maiores, ocorre próximo ao padrão de germinação estabelecido, ou seja neste caso, 85%.

Segundo Jackish, Lindner e Sieg (1984) na opção por planos amostrais sequenciais deve-se partir do princípio de que os riscos do produtor e consumidor não se modificam unilateralmente quando comparado aos processos tradicionais usados até agora e que o objetivo da amostragem sequencial não é determinar a capacidade germinativa de um lote, mas saber se este encontra-se ou não dentro dos padrões de qualidade.

Os resultados do teste do pH do exsudato-fenolftaleína na temperatura de 25°C com sementes escarificadas associadas ao plano de amostragem sequencial podem ser de grande utilidade por ocasião da recepção das sementes, uma vez que o teste apresenta-se sensível na detecção de lotes de baixa qualidade e exige um gasto menor de sementes para a determinação do potencial de germinação garantido pela amostragem favorecendo assim o descarte imediato do material.

Tabela 11. Valores calculados da curva característica de operação do plano de amostragem sequencial para os parâmetros $p_o=0,85$; $p_l=0,90$ e $\alpha=\beta=0,05$ e do plano de amostra fixo ($n=400$ sementes). ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Porcentagem de germinação no lote	Probabilidade de Aceitação	
	Amostragem sequencial	Tamanho fixo
92,05	99,72	100,00
91,66	99,50	100,00
91,27	99,11	100,00
90,86	98,41	100,00
90,44	97,16	99,99
90,00	95,00	99,96
89,56	91,34	99,86
89,10	85,41	99,57
88,63	76,46	98,90
88,14	64,32	97,38
87,14	35,69	89,97
86,62	23,55	82,89
86,09	14,60	73,57
85,55	8,66	62,17
85,00	5,00	50,00
84,44	2,84	37,83
83,87	1,60	27,04
83,29	0,09	17,88
82,70	0,005	11,12
82,11	0,0028	6,55
81,50	0,0015	3,59
80,89	0,0009	1,83
80,27	0,000	0,07
79,64	0,00	0,01
79,01	0,00	0,00
78,37	0,00	0,00
77,72	0,00	0,00
77,07	0,00	0,00
76,42	0,00	0,00

5. CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado este trabalho, pode-se concluir que:

O teste do pH do exsudato-fenolftaleína foi eficiente na separação dos lotes de milho, (*Zea mays* L.) em diferentes qualidades fisiológicas.

O teste do pH do exsudato-fenolftaleína, no tempo de 30 minutos de embebição à temperatura de 25°C foram utilizadas sementes escarificadas, apresentou maior correlação com o teste padrão de germinação.

No teste do pH do exsudato-fenolftaleína o aumento do tempo de embebição de 30 para 45 e 60 minutos de sementes seccionadas subestimou o potencial de germinação dos lotes.

A amostragem sequencial reduziu o tamanho médio da amostra necessária para tomada de decisão quanto ao destino dos lotes de sementes de milho, quando da utilização do teste do pH do exsudato, em 100 sementes para lotes de alta e baixa qualidade e 350 sementes para lotes de qualidade intermediária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-SAMAD, I.M.; PEARCE, R.S. Leaching of ions, organic molecules, and enzymes from seeds of peanut (*Arachis hypogea* L.) imbibing without or with intact testas. **Journal of Experimental Botany**, London, v.29, n.113, p. 1471-1478, Dec. 1978.
- ABDUL-BAKI, A. A.; ANDERSON, J.D. Viability and leaching of sugars from germinating Barley, **Crop Science** , Madson, v.10, n.1, p.31-34, Jan/Feb. 1970.
- ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. **Academic Press**, London v.2, n.1, p.283-315, Oct. 1972.
- ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Vigour determination in soybean seed by multiple criteria. **Crop Science**, Madson, v.13, n.16, p.630-633, Nov/Dec. 1973.
- ABDUL-BAKI, A.A.; BAKER, J.E. Are changes in cellular organelles or membranes related to vigor loss in seeds? **Seed Science & Technology**, New Delhi, v.1, n1., p.89-125, 1973.
- AGRAWAL, P.K. Germination, fat acidity and leching of chugars from five cultivars of paddy (*Oryza sativa*) seeds during storag. **Seed Science & Technology**, New Delhi v.5, n.3, p. 489-498, 1977.

- AMARAL, A.D. ; PESKE, S.T. pH do exsudato para estimar em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília-DF, v.6, n.3, p.85-93, 1984.
- ANTEPARA, H.V.E. **Caracterização e avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja através do tetrazólio**. Pelotas-UFP, 81p. 1979. (Tese Mestrado).
- BÁNYAI, J. Sequenzanalyse in der saatgutprüfung. **Seed Science & Technology**, New Delhi, v.6, n.2, p.505-515, 1978.
- BÁNYAI, J. Report of the statistics committee 1983-1986. **Seed Science & Technology**, New Delhi, v.15, n.2, p.499-505, 1987.
- BÁNYAI, J. Report of the statistics committee 1989-1992. **Seed Science & Technology**, New Delho, v.20, Suppement 1, p.171-175, 1992.
- BARROS, A.S.DO R.; MARCOS FILHO, J. Testes para avaliação rápida da viabilidade de sementes de soja, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 10, n.25, p.1447-1459, Out. 1990.
- BARROS, A.S.R. **Testes para avaliação rápida da viabilidade e do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L) Merrill)**. Piracicaba:ESALq, 1988. 140p. (Tese Mestrado em Fitotecnia)

- BASAVARAJAPPA, B. S.; SHETTY, H.S.; PRAKASH, H.S. Membrane deterioration and other biochemical changes, associated with accelerated ageing of maize seeds. **Seed Science and Technology**, New Delhi, v.19,n.2, p.279-286, 1991.
- BECWAR, M.R. ; STANWOOD, P.C.; ROOS, E.E. Dehydration effects on imbibitional leakage from desiccation-sensitive seeds. **Plant Physiology**, Baltimore, v.69, p.1132-1135, Apr. 1982.
- BOULD, A. Report of the statistics committee 1980-1983. **Seed Science & Technology**, New Delhi, v.12, n.1, p.279-286, 1984.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Normas, Padrões e Procedimentos para Produção de Sementes Básicas, Certificadas e Fiscalizadas**. Minas Gerais, 2.ed, Belo Horizonte, 1985. 110p.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E REFORMA AGRÁRIA. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNAD/CLAV, 1992. 365p.
- BRUGGINK, H.; KRAAK, H.L.; BEKENDAM, J. Some factors affecting maize (*Zea mays* L.) cold test results. **Seed Science and Technology** ,New Delhi, v.19, n.1, p.15-23, 1991.
- BRUGGINK, H.; KRAAK, H.L. ; DIKEMA, M.H.G.E.; BEKENDAM, J. Some factors influencing eletrolyte leakage from maize (*Zea mays* L.) kernels. **Seed Science Research**, London, v.1, n.1, p.15-20, Sep. 1991.

- CARVALHO, C.A.M. **Viabilidade da utilização do teste do pH do exsudato na avaliação da qualidade de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.).** Lavras:UFLA, 1992. 76p. (Tese Mestrado em Fitotecnia)
- CARVALHO, N.M. DE ; NAKAGAWA, J. **Sementes-ciência, tecnologia e produção.** Campinas:Fundação Cargill, 1980. 326p.
- CHING, T.M.; SCHOOLCRAFT, I. **Physiological and chemical differences in aged seeds. Crop Science, Madson, v.8, p.407-409, Jul/Aug, 1968.**
- COLERO, E.; WEST, H.S.; HINSON, K. **Water absorption of soybean and associated causal factors. Crop Science, Madson, v 21, n.6, p.926-932, Nov/Dec, 1981.**
- DELOUCHE, J.C. **Standardization of vigor tests. Journal of Seed Technology, Lansing, v.1, n.2, p.75-85, Jul. 1976**
- DE ROBERTS, E.D.P.; DE ROBERTS JR., E.M.F. **Bases da biologia celular e molecular.** Rio de Janeiro: Guanabara, 1986. 332p.
- DESWAL, D.P. E SHEORAN, I.S. **A simple method for seed leakage measurement: applicable to single of any size. Seed Science & Technology, New Delhi, v.21, n.1, p.179-185, 1993.**
- DODGE, Y. **Application of sequential analysis to tests for noxious weed seeds. Proceedings of the Association. of Official Seed Analysts of North America, New Brunswick, v.62, p.332-329, Jun. 1972**

- DONI FILHO, L.; DONI, M.E. O teste do pH do exsudato para a viabilidade de sementes de mamona (*Ricinus communis* L). **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, Pelotas, v.10, n.1-2, p.195-200, 1988a.
- DONI FILHO, L. ; DONI, M.E. O teste do pH do exsudato para avaliação do potencial de sementes de milho (*Zea mays* L). **Revista do Setor de Ciências Agrárias** , Pelotas, v.10, n.1-2, p.201-205, 1988b.
- ELLIS, R.H., HONG, T.D. ; ROBERTS, E.H. **Handbook of seed technology for genebanks, Principles e methodology**, Rome: IBGPR, 1985. 210p. (Handbook of genebanks, 2)
- ELLIS, R.H.; WHITEHEAD, J. Open, truncated and triangular sequential seed testing procedures. **Seed Science & Technology**, New Delhi, v.15, n.1, p.1-17, 1987.
- FERNANDES, D.F.; PETRINI, J.A.; AMARAL, A.S. **Novo teste de viabilidade em sementes de soja: teste de timerosal**. Pelotas: EMBRAPA-UEPAE, 1984, 3p.
- FERNANDES, E.J.; SADER, R.; CARVALHO, N.M. de Viabilidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L) estimada pelo pH do exsudato. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 5., 1987. **Resumos...** Brasília, ABRATES, 1987. 80p.
- FLENKE, N.J.; SAKSENA, K. Pre-emergence rotting of peas in South Australia III. Host pathogen interation. **Australian Journal Biology Science**, Sweden, v.17, p.665-675, 1964.

- FLOOD, R.G.; SINCLAIR, A. Fatty acid analysis of aged permeable and impermeable seeds of *Trifolium subterraneum* (subterranean clover). **Seed Science & Technology** New Delhi, v.9, n.2, p.475-477, Jun.1981.
- FRANÇA NETO, J.B.; PEREIRA, L.A.G.; COSTA, N.P.; KRYZNOMSKI, F.C.; HENNING, A.A. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1988. 37p.
- GIVELBERG, A.; HOROWITZ, M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. Solute leakage from *Solanum nigrum* L. seeds exposed to high temperatures during imbibition. **Journal of Experimental Botany**, London, v.53, n.161, p.1754-1763, Dec. 1984.
- GLOSH, B.; ADHIKARY, J.; BANERJEE, N.C. Changes of some metabolites in rice seeds during ageing. **Seed Science & Technology**, New Delhi, v.9, n.2, p.468-473, 1981.
- HAYMAN, D.S. The influence of temperature on the exudation of nutrients from cotton seeds and on pre-emergence damping-off by *Rhizoctonia solani*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.47, p.1663-1669, 1969.
- HEPBURN, H.A.; ALISON, A. P.; MATTHEWS, S. Problems associated with the routine application of electrical conductivity measurements of individual seeds in the germination testing of peas and soybeans. **Seed Science & Technology**, New Delhi, v.12, n.2, p.403-413, 1984.
- HERTER, U.; BURRIS, J.S. Evaluation drying injury on corn seed with a conductivity test. **Seed Science and Technology**, New Delhi, v.17, n.3, p.625-638, 1989.

- HEYDECKER, W. Vigour. IN: ROBERTS, G.H., ed. **Viability of seeds**. London:Chapman and Hall, 1974. p.209-252.
- HOLTZMAN, E. E NOVKOFF, A.B. **Células e estrutura celular**. 2.ed, Rio de Janeiro: Guanabara, 1985. 630p.
- JACKISH,W.; LINDNER, H.; SIEG, M. Sequentielle verfahren bei der keimfähigkeitsbestimmung von getreide unter anwendung der saurefuchsin-methode. **Seed Science & Technology**, New Delhi, v.12, n.2, p.697-706, 1984.
- JOO, P.K., ORMAN, B.A. MOUSTAFA, A.M.; HALDAHL, M. Can leachate electroconductivity be a useful toll for corn seed emergence potential evaluation. **Agronomy Abstracts**, London, v3, n2, p.109, 1980.
- LARSON, L.A. The effect soaking pea seeds with or without seedcoats has on seeding growth. **Plant Physiology**.Baltimore, v.43, n.1, p.255-239, Jan, 1968.
- LEGATT, C.W. Contributions to the study of the statistics of seed testing V. Isoprobes for Poisson distribution. **Proceedings of the International Seed Testing Association**, New Delhi, v.9, p.207-217, 1946.
- LEOPOLD, A.C. Temperature effects on soybean imbibition and leakage. **Plant Physiology** Baltiomre, v.65, n.6, p.1096-1098, Jun. 1980.
- LOEFFLER, T.M.; TEKRONY, D.M.; EGLY, D.B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v.12, n.1, p.27-53, Nov., 1981.

- LOOMIS, E.L.; SMITH, E.O. The effect of artificial aging on the concentration of Ca, Mg, Mn, K, and Cl in imbibing cabbage seed. **Journal of American Society for Horticultural Science** local?, v.105, n.5 p.647-650, Jul. 1980.
- MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. da **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALq, 1987. 230p.
- MATEWS, S.R.; POWELL, A.A. Electrical conductivity tests IN: Perry, D.A. **Handbook of vigour test methods**. Zurich: ISTA, 1981. p.37-42.
- MAYBER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. Factors affecting germination. IN: _____. **The germination of seeds**. 2ed, local: editora, 1975. p.21-45.
- MCKERSIE, B.D.; STINSON, R.H. Effect of dehydration on leachate and membrane structure in *Lotus corniculatus* L. seeds. **Plant Physiology**, Baltimore, v.66, n.2, p.316-320, Feb, 1980.
- MCKERSIE, B.D.; TOMES, D.T. Effects of dehydration treatments on germination, seedling vigour and cytoplasmic leakage in wild oats and birdsfoot trefoil. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.58, n.2, p.471-476, 1980.
- MONTGOMERY, D.C. **Introduction to statistical quality control**. Washington : John Wiley & Sons, 1985. 520p.
- MOORE, R.P. Measuring viability with a vitascope takes practice. **Seedsmen's digest**, London, v.10, n.4, p.46-49, out., 1959.

- MURPHY, J.B.; NOLAND, T.L. Temperature effects on seed imbibition and leakage mediated by viscosity and membranes. **Plant Physiology**, Baltimore, v.69, n.2, 428-431p, fev.1982.
- PESKE, S.T.; AMARAL, S. prediction of the germination os soybean seeds by measurement of the pH of seed exudates. **Seed Science and Tecnology**, New Delhi, v.14, n.1, p.151-156, 1986.
- PESKE, S.T.; MONTENEGRO, H. ; PEREIRA, F.T.F.; BAUDET, L. Teste do pH do exsudato para sementes de milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 21., 1990. Vitória. **Resumos...**, Vitória, jul, 1990.
- POLOCK, B.M.; TOOLE, V.K. Imbibitional period as the critical temperature sensitive stage in germination of lima beans seeds. **Plant Physiology**, Baltimore, v.14, n.1, p.221-229, Jan. 1966.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: Agiplan, 1985. 289p.
- 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.3, p.81-100, Aug. 1986.
- POWELL, A.A.; MATTHEWS, S. The damaging effect of water on dry pea embryos during imbibition. **Journal of Experimental Botany**, London, v.29, n.112, p.1215-1229. Oct, 1978.

- POWELL, A.A. ; MATTHEWS, S. The influence of tests condition and vigour of pea seeds. **Journal of Experimental Botany, London**, v.30, n.114, p.193-197, Feb. 1979.
- ROBERTS, E.H. Loss of seed viability: chromosomal and genetical aspects. **Seed Science & Tecknology**, New Delhi, v.1, n.3, p.515-527, 1973.
- ROHATGI, V.K. **An introduction to probability theory and mathematical statistics**. New York: Wiley, 1976. 684p.
- SIMON, E.W. Membranes in dry and imbibing seeds. IN: Crowe, J.H. e Clegg, J.S. eds **Dry Biological Systems** New York: Academic Press, 1978. p.205-224
- TEKRONY, D.M. Seed vigour testing-1992. **Journal of Seed Technology**, Lansing , v.8, n.1, p55-60, Sep. 1983.
- TYAGI, C.S. Evaluating viability and vigour in soybean seed by an exudate pH test. **Seed Science and Technology**, New Delhi, v.21, n.8, p.475-478, 1993.
- WALD, A. **Sequential analysis**. New York :John Wiley, 1947. 212p.
- WALD, A.; WOLFOWITZ, J. Optimun character of the sequential probability ration test. **Annals of Mathematical Statistic**, local, v.4, n.9, p.326-339, Aug., 1948.
- VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M de **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: p.164, 1994. 164p.

APÊNDICE

Tabela 1A. Resumo da análise de variância para o teste de emergência em campo aos 7 e 15 dias (%), potencial pelo tetrazólio, emergência sob condições controladas . ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Causas de Variação	GL	Quadrados Médios e significância			
		Campo		Tetrazólio	Condições Controladas
		7 dias	15 dias		
Lotes	8	267.4722 (0.00001)	283.5556 (0.00001)	136.6111 (0.00001)	292.3750 (0.00001)
Blocos	7	33.6524 (0.1899)	38.4452 (0.1190)	—	16.4167 (0.5326)
Resíduo	56	22.6149	22.1586	11.5926	18.7520
CV (%)		5.31	5.25	5.03	3.70

Tabela 2A. Resumo da análise de variância para o potencial de germinação obtido pelo teste do pH do exsudato em três tipos de preparo da semente (íntegras, escarificadas e seccionadas), sob quatro tempos de embebição (15, 30 45 e 60 minutos) e nove lotes (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9). ESAL, Lavras-MG, 1993/94.

Causas de Variação	GL	Quadrados Médios e significância	
		Temperatura °C	
		25	30
Tipos de preparo da semente (TP)	2	438.2523 (0.00001)	826.4051 (0.00001)
Tempo de embebição (TE)	3	405.7839 (0.00001)	716.9097 (0.00001)
Lotes	8	1740.4086 (0.00001)	1587.6030 (0.00001)
TP * TE	6	355.2955 (0.00001)	348.9192 (0.00001)
TP * Lotes	16	45.5309 (0.00001)	76.2254 (0.00001)
TE * Lotes	24	8.9194 (0.78132)	8.6979 (0.9225)
TP * TE * Lotes	48	39.1793 (0.0001)	29.4106 (0.0002)
Resíduo	324	11.6682	14.1196
CV (%)		3.81	4.23