

CARLOS ALBERTO MACHADO CARVALHO

VIABILIDADE DA UTILIZAÇÃO DO TESTE DE pH DE EX-  
SUDATO NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES  
DE ALGODÃO (*Gossypium hirsutum* L.)

Dissertação apresentada à Escola Superior  
de Agricultura de Lavras, como parte das  
exigências do Curso de Pós-graduação em  
Agronomia, área de concentração Fitotec-  
nia, para obtenção do grau de "MESTRE".

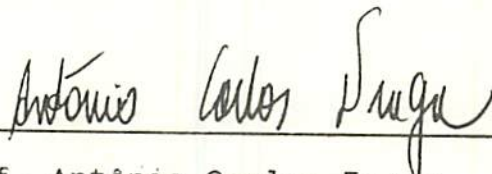
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS  
LAVRAS - MINAS GERAIS

1992



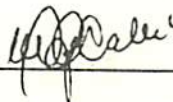
VIABILIDADE DA UTILIZAÇÃO DO TESTE DE pH DE EXSUDATO NA AVALIAÇÃO  
DA QUALIDADE DE SEMENTES DE ALGODÃO (*Gossypium hirsutum* L.)

APROVADA: 24 de março de 1992



---

Prof. Antônio Carlos Fraga  
Orientador



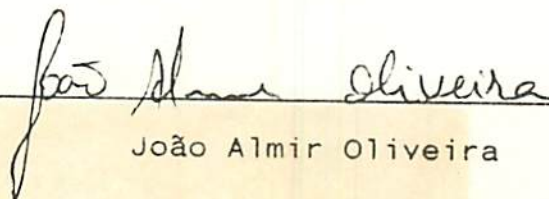
---

Profª Maria das Graças G.C. Vieira



---

Prof. José Ferreira da Silveira



---

João Almir Oliveira

Aos meus irmãos,  
exemplo de força, coragem, luta e amor,

HOMENAGEM

Aos meus amigos e minha menininha Beatriz

OFEREÇO

Aos meus pais Paulo e Terezinha  
Pelo amor e carinho

DEDICO

### AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Escola Superior de Agricultura de Lavras, ESAL, pela oportunidade concedida à realização do curso.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Orientador - Professor Antônio Carlos Fraga pela amizade, orientação e colaboração na realização deste trabalho.

À Professora Maria das Graças G. C. Vieira e aos Professores José Ferreira da Silveira e José da Cruz Machado pela amizade, colaboração e sugestões.

Aos funcionários do Laboratório de Análise de Sementes, Laboratório de Patologia de Sementes e à Equipe de Apoio à Pesquisa do Departamento de Agricultura, pela dedicação e colaboração neste trabalho.

A todos os colegas e amigos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, pela convivência, amizade e incentivo.

### BIOGRAFIA DO AUTOR

Carlos Alberto Machado Carvalho, filho de Paulo Carvalho e Terezinha Machado Carvalho, nasceu em Bom Sucesso, Estado de Minas Gerais, a 18 de fevereiro de 1963.

Em fevereiro de 1984 iniciou o curso de Engenharia Agrônômica na Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL - Estado de Minas Gerais, concluindo-o em Dezembro de 1988.

Iniciou o curso de pós-graduação a nível de Mestrado em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, na Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL, Lavras, Minas Gerais, em março de 1989, concluindo-o em março de 1992.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE QUADROS .....	viii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1. Morfologia e anatomia da semente de algodão .....	3
2.2. Qualidade de semente .....	4
2.3. Testes para avaliação rápida da qualidade de se- mentes .....	9
2.4. Fatores que influenciam no teste do pH do exsudato	13
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	25
3.1. Obtenção das sementes .....	25
3.2. Caracterização do perfil das amostras .....	28
3.2.1. Teste bioquímico de viabilidade de sementes - Teste de Tetrazólio .....	28
3.2.2. Germinação .....	29

	Página
3.2.3. Vigor .....	29
3.2.3.1. Teste de condutividade elétrica ..	29
3.2.3.2. Teste de submersão .....	30
3.2.4. Grau de umidade da semente .....	31
3.2.5. Teste de sanidade de sementes. Incubação em papel de filtro ("Blotter test") .....	31
3.3. Teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em sementes deslintadas e sementes com linter ...	32
3.4. Procedimento estatístico .....	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	36
4.1. Sementes deslintadas .....	36
4.1.1. Avaliação das características das sementes	36
4.1.2. Teste do pH do exsudato (teste de fenolfta- leína) .....	38
4.2. Sementes com linter .....	45
4.2.1. Avaliação das características das sementes	45
4.2.2. Teste do pH do exsudato (teste de fenolfta- leína) .....	47
4.3. Considerações finais .....	52
5. CONCLUSÕES .....	54
6. RESUMO .....	55
7. SUMMARY .....	57
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	59
APÊNDICE .....	68



## LISTA DE QUADROS

Quadro		Página
1	Sorteio das linhas para a formação de amostras com suas respectivas datas de colheita e o número de dias decorrentes da semeadura a colheita. ESAL, Lavras-MG, 1990 .....	26
2	Resultados médios dos testes: Grau de umidade (%), germinação padrão (%), condutividade elétrica ( $\mu\text{s/g}$ ), submersão (%), tetrazólio (%) e sanidade (%), das amostras de sementes deslintadas. ESAL, Lavras-MG, 1991 .....	37
3	Resultados médios (%) do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em sementes deslintadas. ESAL, Lvras-MG, 1991 .....	39
4	Resultados médios (%) do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em sementes deslintadas. ESAL, Lavras-MG, 1991 .....	40

5	Resultados médios dos testes: Grau de umidade (%), germinação padrão (%), condutividade elétrica ( $\mu\text{s/g}$ ), submersão (%), tetrazólio (%) e sanidade (%) das amostras de sementes com linter. ESAL, Lavras-MG, 1991 .....	46
6	Resultados médios (%), do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em sementes com linter. ESAL, Lavras-MG, 1991 .....	48
7	Resultados médios (%), do teste do pH do exsudato teste de fenolftaleína) em sementes com linter. ESAL, Lavras-MG, 1991 .....	49

## 1. INTRODUÇÃO

Em um sistema de produção, a rápida obtenção da viabilidade de sementes, é de fundamental importância na semeadura, na colheita, na recepção e em outras etapas de produção e beneficiamento.

A necessidade de informações rápidas sobre a qualidade fisiológica das sementes, tem proporcionado o desenvolvimento de testes promissores cujos objetivos fundamentais são a rapidez na obtenção dos resultados e, ao mesmo tempo, plenamente utilizáveis pelos produtores e analistas. Para tanto, os testes devem ser, preferencialmente, reproduzíveis, seguros quanto a interpretação, simples e econômicos. A análise de sementes envolve uma série de testes em que o conjunto de resultados obtidos permite avaliar a qualidade da amostra submetida a exame. Tanto em análises de rotina como em programa de controle de qualidade é fundamental que sejam utilizados métodos padronizados, permitindo alto grau de segurança na comparação dos resultados provenientes de diferentes amostras da mesma espécie e/ou cultivar (MARCOS FILHO et alii, 1987). A rapidez na obtenção das informações pode ser extremamente útil em programas de controle de qualidade, possibilitando uma

maior flexibilização na utilização de recursos e também da infraestrutura disponível. A análise de sementes, conduzida em cada trecho do processamento e invariavelmente calcada em testes rápidos, fornecerá as indicações que endossarão o trabalho em curso ou lhe proporão modificações.

A comercialização de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) se processa exclusivamente com base nos valores de germinação, sendo que os lotes remanescentes são reanalisados em função deste parâmetro de qualidade; os que não se reenquadrarem dentro do padrão mínimo estabelecido são encaminhados para a utilização industrial. De posse de um teste rápido de viabilidade de sementes, torna-se possível designar o destino do material antes de se iniciar o beneficiamento, ou seja, decidir o uso das sementes antes do ensacamento, se para sementes ou fins industriais, conseqüentemente fazendo-se uma economia de tempo e dinheiro.

O presente trabalho foi planejado e conduzido com o objetivo de avaliar a viabilidade de aplicação do teste do pH do exsudato (fenolftaleína) para sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), considerando tempo e temperatura de embebição, sementes com e sem linter e níveis de qualidade fisiológica.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Morfologia e anatomia da semente de algodão

A semente do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é periforme, pontuda na extremidade da micrópila, livre, geralmente de cor pardo escura. A semente tem casca dura, impermeável, proveniente dos tegumentos do óvulo. Seu peso varia de 0,10 a 0,13g. Em um corte histológico longitudinal, o seu diâmetro maior e o menor medem aproximadamente 10 e 6 mm respectivamente. Partindo da parte externa da semente pode-se observar: a epiderme, o tegumento, o endosperma e o embrião (PASSOS, 1977).

A epiderme é formada por uma camada de células esclerificadas, sendo que algumas se diferenciam formando as fibras do algodão. Estas fibras de formato mais ou menos cilíndricos, medindo de 3 a 12 mm de comprimento são chamadas "linter". O linter é constituído basicamente por celulose quase pura, além de outros componentes como pectina, graxas, resina e constituintes minerais. As sementes comerciais podem estar inteiramente cobertas por fibras curtas (deslinteramento mecânico) ou completamente lisas e livres de fibras (deslinteramento ácido), (CORREA, 1965; GRIDI-

PAPP, 1965; PASSOS, 1977). O tegumento é constituído de tecido parenquimatoso, geralmente de coloração escura. A estrutura do tegumento da semente depende de características específicas do óvulo, particularmente com relação ao número e espessura dos tegumentos, e do arranjo do tecido vascular e das modificações sofridas pelos tegumentos durante o desenvolvimento e maturação da semente (CARVALHO & NAKAGAWA, 1980). O tegumento é constituído de celulose, lignina, pentosana, tanino e sais minerais. Quimicamente o tegumento é composto de: 8,7% de água, 2,6% de cinzas, 3,5% de proteína bruta, 46,2% de hidrato de carbono e 1,0% de matéria graxa (CORREA, 1965 e PASSOS, 1977). A epiderme e o tegumento constituem a casca da semente. O endosperma é representado somente por uma membrana, fina como papel, que envolve e adere a amêndoa, que é formada pelo embrião. A amêndoa é de natureza oleaginosa com 25 a 40% de gordura, cheia de glândulas que possuem pigmentos e um alcaloide chamado gossypol. O embrião, que ocupa quase que a totalidade do interior da semente, consiste de uma radícula curta e reta, dois grandes e finos cotilédones dobrados complicadamente e uma plúmula rudimentar. Os cotilédones armazenam lipídeos, proteínas de reserva, fitina, mas não amido (GRIDI-PAPP, 1965 & PASSOS, 1977).

## 2.2. Qualidade de semente

O termo "qualidade" é usado para descrever caracterís-

ticas da semente que devam atingir padrões mínimos (HEYDECKER, 1974). Segundo POPINIGIS (1985), entende-se por qualidade fisiológica a capacidade da semente de desempenhar funções vitais, caracterizada pelo seu poder germinativo, seu vigor e sua longevidade. Vários fatores interferem na qualidade da semente, sendo que alguns deles promovendo a deterioração que contribui diretamente para a perda da sua qualidade, podendo até inviabilizá-la.

DELOUCHE & BASKIN (1973) entendem a deterioração das sementes como uma seqüência hipotética de eventos, que se inicia com a desorganização de membranas e perda do controle de sua permeabilidade e culmina com a redução do poder germinativo e a morte da semente.

POPINIGIS (1985) relata que as transformações degenerativas na sementes são de origem bioquímica, fisiológica e física. Este mesmo autor citando Delouche (1969), afirma que a degeneração das membranas celulares e subsequente perda do controle da permeabilidade é a primeira das transformações que ocorrem na deterioração de sementes. POPINIGIS (1985), ainda descreve que Berjak & Villiers (1968) sugeriram que a perda de viabilidade pode ser o resultado da desintegração das membranas celulares, e a mais importante ocorreria no mitocôndrio. Isto causaria um decréscimo na eficiência do mecanismo respiratório, cuja consequência final seria a perda da viabilidade da semente. Entretanto Villiers (1968), baseado em evidências experimentais, propõe em novos termos que a causa primordial da deterioração das sementes é a degradação

das membranas celulares. O próprio Villiers (1968) propõe que o mecanismo de degeneração das membranas é a produção de radicais livres na cadeia dos ácidos graxos insaturados na presença de oxigênio, onde, estes são altamente reativos e capazes de iniciar reações de polimerização, causar ligações cruzadas de enzimas, lípidos e proteínas estruturais, cisões nas moléculas de polipeptídeos e modificações deletérias nos aminoácidos.

DELOUCHE et alii (1976), citam que diversas investigações verificaram que o conteúdo de ácidos graxos livres em certas espécies de sementes está estritamente correlacionado com a viabilidade. Tais autores ainda evidenciam um experimento de Hoffpauer (1947) que, cortando individualmente ao meio sementes de algodão, semeou a extremidade com embrião em agar e determinou os ácidos graxos livres na outra extremidade. De posse dos dados obtidos, Hoffpauer (1947) observou que a maioria das sementes com menos de 3% de ácidos graxos livres eram viáveis, enquanto que todas as sementes com mais de 5% desses ácidos estavam mortas. POPINIGIS (1985), cita o aparecimento de ácidos graxos como uma das teorias de deterioração da semente, diz ainda que o aparecimento de ácidos graxos, na semente, é proposto como a causa de sua deterioração e perda de viabilidade. Porém, resultados consistentes têm sido encontrados apenas para sementes oleaginosas, como no experimento de Hoffpauer (1947) acima citado, continuando, o autor comenta que mesmo assim, não há evidência clara de que o aumento no teor de ácidos graxos é uma das causas de deterioração, havendo a possibilidade de que seja inclusive uma de suas conseqüências.



POWELL (1986) observou a ocorrência de mudanças bioquímicas nas membranas que resultam em um aumento de lixiviação de metabólitos já no início do processo de deterioração, quando as sementes ainda são viáveis; a quantidade de lixiviados é influenciada pela condição da semente na época de colheita, pela idade da semente e também pela incidência de danificações.

O tipo de crescimento do algodoeiro, possibilitando a formação, maturação e deiscência desuniforme dos frutos, da base para o ápice da planta, permite que haja, nas condições e épocas de semeadura das principais regiões algodoeiras do Brasil, uma diferença de 60 dias em média entre a primeira e a última deiscência (ALVES, 1975). Continuando, o autor comenta que a realização da colheita com base no aspecto geral da planta faz com que os frutos do terço inferior fiquem expostos no campo por um período, em geral, de 2 a 3 semanas, podendo atingir até 2 meses. É verificada uma baixa porcentagem de germinação quando a semente é colhida após condições climáticas desfavoráveis, permitindo que ocorra processo de deterioração das sementes no campo, após a deiscência dos frutos. ALVES (1975), FIGUEIREDO (1981) e PAOLINELLI (1986) observaram que, comumente os capulhos do terço inferior da planta de algodoeiro ficam expostos no campo por mais tempo e esta exposição ao ambiente se constitui no principal agente causador da rápida deterioração, acarreta reduções no poder germinativo e, conseqüentemente na qualidade da semente. Entretanto, ALVES (1975) verifica que as melhores épocas de colheita foram quando ocorreram 40 e 70% da deiscência dos frutos

e que há uma nítida tendência da perda da qualidade das sementes produzidas na parte superior da planta.

Outro fator capaz de depreciar a qualidade das sementes é a presença de patógenos nas mesmas. Atualmente o conhecimento da qualidade sanitária das sementes se faz de fundamental importância, para que então possa ser evitado, grandes prejuízos. Segundo TOLEDO & MARCOS FILHO (1977), todas as sementes produzidas sob a ação direta das condições atmosféricas, podem carregar consigo microrganismos, principalmente fungos e bactérias, que reduzem a germinação e provocam a formação de plantas debilitadas, praticamente inviáveis.

LIMA et alii (1982) ressalta que um grande número de microrganismos é comumente encontrado em sementes de algodão, a qual se torna um importante veículo de disseminação de patógenos que contribui para o comprometimento do sucesso da cultura, principalmente na presença do "Linter" que, além de abrigar muitos patógenos, favorece a presença de saprófitos, que podem dificultar a detecção de patógenos importantes. Por outro lado, o deslignamento químico (ácido sulfúrico) pode reduzir o inóculo dos microrganismos que se encontrem na superfície da semente, facilitando a detecção dos patógenos localizados internamente. SOAVE (1984) comenta que já foram detectadas 48 espécies diferentes de fungos associados às sementes de algodão, dentre os quais LIMA et alii (1982) destaca; o *Colletotrichum gossypii*, causador da antracnose e *Fusarium oxysporum*, que causa a murcha, como os mais importantes.

TANAKA & PAOLINELLI (1984), em estudo de sementes de algodoeiro no Estado de Minas Gerais nos anos agrícolas de 1980/81 e 1981/82 destacaram a predominância de *Fusarium moniliforme* e *Fusarium* spp. nos dois anos agrícolas estudados, além de terem sido observados: *Colletotrichum* sp., *Macrophomina phaseolina*, *Botryodiplodia theobromae* e *Phoma* sp. Continuando, os autores relatam que a semente de algodão utilizada pelos agricultores de Minas Gerais, nem sempre tem apresentado qualidade satisfatória, demonstrada pela baixa germinação e vigor, o que é um dos fatores limitantes para uma boa produtividade.

### 2.3. Testes para avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes

A necessidade de métodos rápidos, para estimar ou predizer o comportamento germinativo das sementes, tem sido de longa data reconhecida. Uma busca sistemática e científica por esses métodos data desde o final do século XIX. Outros fatores relacionados com a qualidade da semente, tais como pureza, porcentagem de ocorrência de sementes silvestres nocivas e teor de umidade, podem ser avaliadas em poucos minutos. No entanto, desde que as sementes são valiosas, somente quando uma porcentagem relativamente alta das mesmas é viável, as decisões relacionadas com os processos de beneficiamento, armazenamento, homogeneização e disposição dos lotes de sementes devem ser baseados na intuição

ou experiência, ou retardados por dias ou semanas, até que os resultados dos testes de germinação estejam disponíveis (DELOUCHE et alii, 1976).

Os testes rápidos geralmente se baseiam na coloração dos tecidos vivos das sementes, em função de alterações na atividade respiratória (caso específico do teste de tetrazólio) ou na permeabilidade das membranas, avaliando parâmetros relacionados à liberação de metabólitos durante a embebição das sementes, como a condutividade elétrica do meio de embebição, a quantidade de potássio lixiviado e as alterações no pH do exsudato das sementes. Moore (1969) citado por MARCOS FILHO et alii (1987) relatou que as informações disponíveis sobre a avaliação rápida da viabilidade de sementes são provenientes da interação de resultados obtidos em pesquisas conduzidas nas áreas de Bacteriologia, Bioquímica, Medicina e Fisiologia Vegetal.

Os métodos que são baseados em uma dada quantidade de sementes, poderão obter maior sucesso para se estimar o vigor de lotes de sementes, porém tem suas limitações na avaliação da percentagem de germinação, pois estes métodos não permitem a avaliação individual das sementes conseqüentemente não são muito precisos. DELOUCHE et alii (1976) observa que os procedimentos baseados em uma avaliação individual da reação da semente mostram estar entre os métodos de maior sucesso para predizer ou estimar a viabilidade das sementes. O mesmo autor diz ainda que as tentativas para desenvolver testes rápidos de viabilidade, baseados na reação individual da semente, eram relacionadas com materiais

que coloriam as sementes mortas ou porções destas.

Muitos dos métodos mais promissores e de sucesso, para estimar rapidamente a viabilidade das sementes, são em essência testes para enzimas específicas ou grupos de enzimas. O teste de tetrazólio, baseado na atividade enzimática, é um dos melhores, mas, requer experiência e tempo do analista (ANTEPARA, 1979).

O teste de tetrazólio é conhecido nos Estados Unidos da América há mais de 15 anos, entretanto, nele não foi encontrada uma aplicação generalizada na indústria de sementes ou nos laboratórios de análise de sementes (DELOUCHE et alii, 1976). Continuando, o autor relata que a aplicação limitada do teste de tetrazólio, provavelmente pode ser atribuída à relativamente pequena disponibilidade de informação sobre o mesmo, por parte daqueles que têm a maior necessidade dele, produtores e analistas de sementes. Muito embora ainda exista uma considerável literatura sobre o teste, a maior parte dela é de estilo tecnicamente elevado ou em língua estrangeira e as técnicas e os métodos não têm sido apresentados na forma ou nos detalhes que necessitam o produtor ou os analistas de sementes.

A desorganização do sistema de membranas celulares e a conseqüente perda da permeabilidade, é a primeira de uma série de modificações irreversíveis que ocorrem no processo de deterioração das sementes (POPINIGIS, 1985).

DE ROBERTIS & DE ROBERTIS (1986) descrevem que a membrana celular regula o movimento de substâncias para dentro e fora da célula, como compostos orgânicos e ions celulares, dentre outras.

Os mesmos autores ainda relatam que o transporte de moléculas através da membrana é altamente específico. Esta especificidade é atribuída a proteínas de transporte, também chamadas carreadoras ou permeases, que atuam quando a estrutura da membrana celular se mantém intacta. Neste mesmo sentido HOLTZMAN & NOVIKOFF (1985) comentam que a membrana citoplasmática está presente na superfície de todas as células. Embora algumas outras estruturas intimamente associadas exerçam papéis importantes, esta membrana é a barreira primária que determina o que entra ou sai da célula. Continuando, os mesmos autores citam que atualmente considera-se que o controle do volume celular e a regulação das concentrações de materiais dissolvidos ("solutos") em compartimentos intracelulares e nos líquidos extracelulares de organismos multicelulares são atividades essencialmente fisiológicas. Estas atividades dependem da estrutura celular, portanto a necessidade da membrana celular estar intacta.

Dentro desta mesma linha TOLEDO & MARCOS FILHO (1977) informaram que a perda da integridade de membranas em sementes deterioradas é verificada por ocasião da embebição destas sementes, que liberam maiores quantidades de açúcares, ions e outros compostos do que as menos deterioradas, indicando uma maior permeabilidade das membranas.

Uma vez que o sistema de membranas celulares é a última estrutura a organizar-se antes da maturidade fisiológica é a primeira a exibir as alterações degenerativas que caracterizam a deterioração das sementes (HEYDECKER, 1974). Este mesmo autor

observou que a falta de integridade das membranas pode acarretar lixiviação de açúcares, aminoácidos, proteínas, eletrólitos, enzimas mitocondriais e outras substâncias solúveis em água.

Neste mesmo sentido, WOODSTOCK (1973) destacou também que, a lixiviação de metabólitos das sementes está inversamente associada ao seu vigor com base em três fatores: reflete a perda da integridade das membranas; representa a conseqüente perda de elementos essenciais constituintes da célula e, finalmente, pode favorecer o aparecimento de microorganismos.

#### 2.4. Fatores que influenciam no teste do pH do exsudato

A embebição é um tipo de difusão que ocorre quando as sementes absorvem água. Difusão é um movimento, ao acaso, de partículas de determinada substância, distribuindo-se uniformemente num espaço disponível. A embebição pelas sementes está relacionada às propriedades dos coloides. A velocidade de absorção de água pela semente, varia com a espécie, permeabilidade do tegumento, disponibilidade de água, temperatura, pressão hidrostática, área de contato semente/água, forças intermoleculares, composição química e condição fisiológica (POPINIGIS, 1985).

A embebição se processa mais rapidamente em altas temperaturas, devido a menor viscosidade da água, e sua maior energia cinética, nesta condição (MAYER, 1975). Segundo HOLTZMAN & NOVIKOFF (1985) o aumento da temperatura aumenta a fluidez da

membrana citoplasmática, permitindo que a água atravessasse a membrana com maior facilidade. Dentro de determinados limites, a velocidade de embebição de água pela semente aumenta com o aumento de temperatura, isto porque, aquecendo-se a água aumenta-se a energia desta, resultando um aumento da pressão de difusão da água, além de um aumento da atividade metabólica que também contribui para um aumento da velocidade de embebição da semente (POPINIGIS, 1985). Este mesmo autor continua dizendo que quando a semente está em embebição, o aumento do volume de água no seu interior exerce pressão sobre as membranas, gerando como reação, pressão de igual magnitude e em sentido oposto, denominada pressão hidrostática. Esta pressão atuando sobre a água embebida, aumenta a pressão de difusão desta, fazendo com que parte da mesma difunda-se para fora da semente. O autor ainda relata a importância da superfície de contato semente/água dizendo que, outros fatores sendo constantes, a velocidade de embebição é proporcional à superfície de contato entre a semente e a água. Finalmente, com relação à influência da condição fisiológica na embebição de sementes, POPINIGIS (1985) comenta que sementes imaturas e sementes deterioradas absorvem água mais rapidamente, sendo que este fato está associado a maior permeabilidade das membranas nestas sementes. VIEIRA (1980) observou um aumento na absorção de água pela semente com o retardamento da colheita, e atribuiu este fato a um aumento na permeabilidade das membranas, ocasionado pelo processo de deterioração.

Segundo CARVALHO & 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.

WOODSTOCK & TAYLORSON (1981) estudando o processo de embebição de sementes de soja e sua relação com a deterioração, comprovaram a formação de etanol e acetaldeído quando da submersão das sementes, observando uma relação inversa e similar entre os níveis destes produtos formados e a deterioração das sementes. Os autores observaram que durante a embebição de sementes os níveis de etanol e acetaldeído aumentam em taxas mais elevadas nos tecidos das sementes de baixo vigor.

PATIL & ANDREWS (1985) observaram que havia diferenças na taxa de absorção de água para diferentes materiais genéticos de sementes de algodão quando submetidos a um mesmo período de embebição. Segundo os autores estas diferenças foram atribuídas aos diferentes tamanhos de sementes, composição química e permeabilidade do tegumento. Neste mesmo trabalho foi observado que sementes deterioradas absorvem água com maior rapidez que sementes sadias.

CHRISTIANSEN & MOORE (1959) em um trabalho estudando a hidratação de sementes de algodão, observaram que as proteínas e lipídeos presentes nos cotilédones de sementes firmes não entraram em contato com a água, devido a manutenção das estruturas dos tecidos mais externos da semente.

CARVALHO & NAKAGAWA (1980) citando Street & Cockburn

(1972) relatam que, durante o fenômeno de embebição observa-se liberação de calor, principalmente em sua fase inicial, como uma indicação da perda de energia cinética pelas moléculas de água absorvidas.

PARRISH & LEOPOLD (1977) descreveram mudanças ocorridas durante o processo de embebição; quando embeberam sementes de soja e verificaram que a membrana da semente muda de porosa para menos permeável com o decorrer do processo de embebição e que as mudanças físicas ocorrem nos primeiros momentos de entrada de água.

A exsudação inicia-se assim que os embriões secos começam embeber e os eletrólitos exsudados partem de dentro do embrião (SIMON & HARUN, 1972). Estes mesmos autores, trabalhando com sementes de ervilha observaram que nas sementes secas, onde praticamente cessa o desenvolvimento das células, as membranas perdem a sua integridade e quando estas sementes são colocadas para embeber em água, liberam os solutos das células até que ocorra o restabelecimento da integridade das membranas.

ROSS & POLLOCK (1971), avaliando os danos causados pela submersão em sementes de feijão-lima, concluíram que os efeitos prejudiciais da embebição das sementes têm sido atribuídos ao enfraquecimento da integridade da membrana com perda de nutrientes essenciais, à atividade de bactérias e fungos atraídos e estimulados pelos exsudados das sementes e pela falta de Oxigênio disponível para o interior das sementes.

Quando sementes mortas são embebidas, a descontinuidade de suas membranas pode permitir a liberação de ions de Hidrogênio

para o meio, antes que as membranas sejam novamente organizadas, resultando em baixo pH no exsudato (LOOMIS & SMITH, 1980 e SIMON & HARUN, 1972). No processo de embebição das sementes os ions Ca, Mg, Mn, K e Cl são lixiviados, ocasionando a elevação do pH do exsudato da semente. Sementes deterioradas apresentam inclusive maior lixiviação destes ions, porém lixiviam maior quantidade de  $H^+$  que irá ocasionar um menor pH nos seus exsudatos (LOOMIS & SMITH, 1980).

Segundo CARVALHO & NAKAGAWA (1980) a embebição é um processo físico, ligado as propriedades das substâncias coloidais, verificando-se portanto, quer em sementes vivas, quer em mortas. Com a absorção de água, as substâncias coloidais aumentam de volume produzindo a pressão de embebição, sendo este fato de grande importância para levar ao rompimento o tegumento da semente.

WALLER (1901), em um trabalho realizado sobre um método elétrico para determinar a viabilidade das sementes, demonstrou que sementes viáveis quando submetidas a uma corrente elétrica, apresentaram as chamadas "correntes marcadas", que poderiam ser medidas galvanometricamente e que as sementes mortas reagiriam diferentemente ao tratamento. Trabalho posterior ao método de WALLER mostrou que a técnica era razoavelmente segura, mas requeria muito tempo e considerável competência técnica.

Trabalhando com o uso de métodos elétricos para estimar a viabilidade de sementes, HIBBARD & MILLER (1928), fizeram experimentos baseados na premissa de que as sementes não viáveis eram mais permeáveis do que as sementes vivas e que em consequência

os eletrólitos seriam lixiviados mais rapidamente das sementes mortas ou velhas. Embebendo uma quantidade de sementes em água, ou em uma solução diluída de permanganato de potássio e posteriormente medindo a resistência elétrica da água de embebição, determinaram que a resistência elétrica variou diretamente com a viabilidade e que a capacidade germinativa das sementes poderia ser estimada com certa precisão.

DUKE & KAKEFUDA (1981) relataram a possibilidade de se medir as substâncias lixiviadas através do teste de condutividade elétrica, quando as sementes são embebidas em água. Entretanto os testes baseados na condutividade dos exsudatos podem dar uma boa correlação com a germinação dependendo da cultivar, espécie, temperatura, umidade e vigor da semente (PERL & FEDER, 1983 e TAO, 1978).

MARCOS FILHO et alii (1987) observa que a medição da qualidade das sementes, baseada na perda de eletrólitos, dá uma boa indicação do desempenho da planta em relação ao índice de emergência e o crescimento vegetativo precoce, pois as sementes mais deterioradas liberam maiores quantidades de exsudatos.

Testes baseados em exsudatos de sementes são comumente usados para sementes de ervilha (*Pisum sativum* L.) como teste de vigor medindo a condutividade dos exsudatos após as sementes terem sido embebidas em água durante um certo período de tempo (MATTHEWS & BRADNOCK, 1968).

ALIZAGA et alii (1969) fazendo avaliação de testes de vigor em sementes de feijão e suas relações com a emergência em

campo, concluíram que, dentre os diversos testes que foram estudados, o teste de envelhecimento precoce e o teste de lixiviação de aminoácidos (4 horas) foram os que melhor diferenciaram os níveis de vigor das sementes, mostrando a melhor correlação com a emergência no campo. No entanto, MARCOS FILHO et alii (1984) trabalhando com o mesmo objetivo, utilizando sementes de soja, observaram que a utilização exclusiva da lixiviação  $K^+$  poderia conduzir a uma interpretação precipitada e inadequada sobre a qualidade dos lotes estudados, pois o teste se mostrou pouco sensível às diferenças de vigor entre a maioria dos lotes.

Como já foi evidenciado, a organização do sistema de membranas em sementes pode refletir seu estágio de deterioração e, conseqüentemente, a qualidade fisiológica. Normalmente, baixa qualidade está relacionada à desintegração das membranas. Assim, durante a embebição e previamente a reorganização das membranas, há liberação do conteúdo citoplasmático. A liberação de maiores quantidades de ions  $H^+$  contribui para acidificar o meio e, como o pH baixo tem efeitos negativos sobre a atividade enzimática, pode estar desfavoravelmente relacionado à germinabilidade de sementes (MARCOS FILHO et alii, 1987).

Quando as sementes são submetidas à embebição em água, lixiviam mais ou menos ions  $H^+$  dependendo do seu estágio de deterioração, sendo que, as mais deterioradas apresentam maior lixiviação desses ions  $H^+$  e conseqüentemente exsudatos mais ácidos, com menor valor de pH; em contrapartida as sementes menos deterioradas originarão exsudatos com maior valor de pH (AMARAL &

PESKE, 1984). ABDUL-BAKI & ANDERSON (1973) em pesquisa com semente de soja, destacaram as vantagens das avaliações das sementes através de lixiviação ou liberação de metabólitos; entre outras, citaram a rapidez com que essas determinações são realizadas. Segundo os autores, a lixiviação dos metabólitos pode ser determinada também por meio de procedimentos colorimétricos.

A determinação do pH do exsudato das sementes pode ser realizada com auxílio de indicadores ou por meio de aparelhos denominados peagômetros (AMARAL & PESKE, 1984 e PESKE & AMARAL, 1986).

FRANCO et alii (1984) desenvolveram o denominado teste de Timerosal. De acordo com os autores, as sementes foram colocadas para embeber individualmente por 24 horas a 20°C, após este período, foram adicionadas a cada compartimento individualizado, 2 a 3 gotas de uma solução de timerosal, comercialmente conhecido com o nome de Merthiolate; a reação originou duas colorações: a laranja brilhante representando as sementes viáveis e, a avermelhada, as sementes deterioradas. Os autores ainda observaram que as alterações de coloração ocorreram em função do pH dos exsudatos.

AMARAL & PESKE (1984) trabalhando com o teste do pH do exsudato em soja, observaram que algumas células com sementes apresentavam uma coloração mais forte do que as células apenas com água, indicando assim que no primeiro estágio inicial de embebição o pH do exsudato das sementes aumenta. Esta observação pode ser explicada com base nos trabalhos de LOOMIS & SMITH (1980), onde salientam que no processo de embebição das sementes os ions Ca, Mg,

Mn, K e Cl são lixiviados ocasionando a elevação do pH do exsudato das sementes. AMARAL & PESKE (1984a) ainda observaram que após um certo período de embebição, todas as sementes de soja que apresentaram o exsudato com o pH menor ou igual a 5,8 eram sementes mortas e que este valor seria o limite mais provável entre sementes viáveis e não viáveis. Os dados de pH obtidos, após a coloração das substâncias normalmente sofrem uma variação de soluções que se mantém incolor e soluções que se colorem de rosa forte, sendo que esta variação está em função do pH inicial da água utilizada, da umidade e do próprio estágio de deterioração da semente (PESKE & AMARAL, 1986). AMARAL & PESKE (1984) determinaram a viabilidade de sementes de soja através do teste do pH do exsudato - teste de fenolftaleína. Os autores concluíram, com base nos resultados, que o período de 30 minutos de embebição é o mais eficiente para estimar o poder germinativo de sementes de soja. Estes mesmos autores, em 1985, comentaram que o teste do pH do exsudato-fenolftaleína, além de avaliar a viabilidade de sementes de soja em apenas 30 minutos, possui como vantagens além da rapidez, a metodologia simples e a fácil avaliação. Os autores ainda destacaram que o teste é preciso além de possuir baixo custo e apresentar possibilidade de ser utilizado para outras culturas como: feijão, algodão, milho e arroz.

FERNANDES et alii (1987) utilizaram o teste do pH do exsudato-fenolftaleína para determinar a viabilidade de sementes de feijão em 30 minutos. Foi verificado que entre os sete cultivares estudados, quatro apresentaram resultados semelhantes entre o teste





do pH do exsudato-fenolftaleína e o teste de germinação.

BARROS (1988), trabalhou com o teste do pH do exsudato-fenolftaleína em soja, utilizando diferentes períodos de tempo de embebição da semente e vários lotes de sementes com qualidades fisiológicas diferentes de três cultivares. Este autor seguiu a metodologia descrita por AMARAL & PESKE (1984), quando relatou que não foi suficientemente caracterizado, qual o período de tempo de embebição que proporcionou uma separação mais eficiente dos lotes, provavelmente pelos mesmos apresentarem diferenças de qualidade muito pequenas; entretanto, com o período de embebição de 20 minutos, de um modo geral, os valores obtidos foram maiores, numericamente, em relação aos obtidos com 30 minutos de embebição. Este fato evidencia a menor lixiviação do agente causador da redução do pH no exsudato das sementes, quando o teste é realizado em 20 minutos, confirmando as observações de AMARAL & PESKE (1984).

Outro fato observado pelo autor, ocorrido principalmente no período de embebição de 30 minutos, foi que a coloração dos exsudatos das sementes se apresentaram com tonalidades mais claras nos lotes de qualidades inferiores em relação a aqueles de melhor qualidade. Este fato comprova a maior liberação de substâncias em sementes mais deterioradas indicando uma maior permeabilidade das membranas como comentado por ABDUL-BAKI & ANDERSON (1973); estas sementes também estariam sujeitas a liberação de uma maior quantidade de ions  $H^+$ , conseqüentemente acidificando o meio de embebição, que por sua vez no teste do pH do exsudato-fenolftaleína se traduz na obtenção de exsudatos com colorações mais claras (AMARAL &

PESKE, 1984)

BARROS (1988) destaca também a importância da padronização de procedimentos, visando uma maior uniformidade de resultados. principalmente no que se refere ao volume de água, período e temperatura de embebição, bem como o peso das gotas das soluções de carbonato de sódio e de fenolftaleína, que podem originar alterações nas colorações dos exsudatos das sementes, provocando interpretações errôneas. Neste mesmo trabalho BARROS (1988) ainda concluiu que o teste do pH do exsudato-fenolftaleína realizado com 30 minutos de embebição apresentou tendência de comportamento semelhante ao teste de germinação mas, comentou também que por outro lado, os resultados do teste superestimou a viabilidade de sementes nos lotes com maior grau de deterioração, nos dois períodos de tempo de embebição utilizados.

MARCOS FILHO et alii (1987) referindo-se ao teste do pH do exsudato-fenolftaleína, observou que podem aparecer dúvidas quanto a interpretação da viabilidade de sementes colocadas em células onde se obtém coloração rosa fraco, pois esta tonalidade poderá não estar bem caracterizada e apresentar variações. Nesta situação é recomendável, após a perfeita identificação de cada uma destas sementes e da tonalidade observada, colocá-las para germinar e, de acordo com os resultados obtidos, classificar a semente como germinável ou não. Este procedimento pode ser necessário até que o analista esteja familiarizado com o significado de cada tonalidade observada. O mesmo autor ainda comenta que é importante

ressaltar a necessidade da utilização de amostras com grau de umidade uniforme, para maior precisão dos resultados.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido em área experimental e no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura de Lavras, Minas Gerais.

O trabalho foi desenvolvido em duas etapas: a primeira destinada a obtenção das sementes, e a segunda etapa constou de avaliações laboratoriais das características fisiológicas e sanitárias das sementes com posterior aplicação dos tratamentos do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína). No Laboratório, foram montados dois ensaios: o primeiro utilizando sementes deslindadas pelo processo químico e o segundo utilizando sementes com linter.

#### 3.1. Obtenção das sementes

Para se obter as sementes, semeou-se 16 linhas de 80 m de comprimento, das quais, as duas externas de cada lado da área serviram de bordadura. Das 12 linhas restantes, escolheu-se por

sorteio, seis pares de linhas as quais após colhidas formaram as seis amostras ( $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_4$ ,  $A_5$ ,  $A_6$ ). As amostras se diferenciaram pelo período de tempo de exposição das sementes no campo, sendo que, foram colhidas em intervalos de 15 dias, portanto, cada amostra representou uma época de colheita. A primeira amostra foi colhida quando observou-se 60% de deiscência dos frutos. As sementes foram obtidas no ano agrícola 1989/90, tendo sido utilizada a variedade IAC-20. O esquema de sorteio das linhas para a formação das amostras com suas respectivas datas de colheita, bem como, o número de dias decorrentes da semeadura a colheita para cada amostra estão apresentados no Quadro 1.

QUADRO 1 - Sorteio das linhas para a formação das amostras com suas respectivas datas de colheita e o número de dias decorrentes da semeadura a colheita. ESAL, Lavras-MG, 1990.

Amostras	$A_1$		$A_2$		$A_3$		$A_4$		$A_5$		$A_6$	
Linhas sorteadas	5	12	3	6	11	9	8	4	2	7	10	1
Data da colheita	10-04-90		25-04-90		10-05-90		25-05-90		10-06-90		25-06-90	
Número de dias da semeadura a colheita	140		155		170		185		200		215	

Após a colheita manual de cada amostra, efetuada sempre na parte da tarde, procedeu-se o descaroçamento mecânico das sementes. O excesso do Linter foi retirado manualmente, à medida

que se efetuava a análise de pureza. Em seguida o material foi acondicionado em sacos de papel e armazenados em câmara fria ( $10 \pm 2$  C e 45% U.R.).

Posteriormente a realização do descaroçamento e todo o material submetido a análise de pureza, o total de material de cada amostra foi dividido em duas parcelas iguais, sendo que em uma delas procedeu-se o deslinteramento químico com ácido sulfúrico concentrado. Para o deslinteramento, as sementes foram colocadas em um bequer de vidro juntamente com ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) concentrado, na proporção de três partes de sementes para uma parte de ácido, medidos em peso.

Em seguida revirou-se todo o material contido no bequer durante seis minutos, quando então, já se observava a retirada completa do Linter. Após este processo as sementes foram lavadas em água corrente e posteriormente submersas em uma solução de carbonato de cálcio ( $CaCO_3$ ) 0,1% durante um período de tempo de dois minutos sendo novamente lavadas em água corrente e espalhadas sobre papel toalha em local seco, arejado e à sombra por um período de 24 horas. Em seguida, o material já seco foi acondicionado em caixas de papelão e levado para armazenamento em câmara fria e seca ( $10 \pm 2$ °C e 45% U.R.).

Todas as amostras de sementes permaneceram armazenadas durante um período de 120 dias, em consequência houve um equilíbrio de umidade para todas elas. Logo após o armazenamento, o material foi submetido a segunda etapa do trabalho, ou seja, às avaliações de laboratório.

### 3.2. Caracterização do perfil das amostras

#### 3.2.1. Teste bioquímico de viabilidade de sementes - Teste de Tetrazólio

Para a realização deste teste foram utilizadas 4 repetições de 25 sementes, totalizando 100 sementes avaliadas. As sementes foram pré-condicionadas em papel toalha umedecido, por 16 horas à temperatura de 25°C. Após este período, removeram-se manualmente os tegumentos das sementes, quando então foram submersas em copos contendo solução de Cloreto 2,3,5 Trifenil Tetrazólio à 0,1%. As sementes permaneceram submersas nesta solução por um período de 3 horas a uma temperatura de 40°C, quando então, foram lavadas em água corrente e submetidas à avaliação.

Na avaliação, as sementes foram classificadas pelo sistema de notas em viáveis e mortas. As viáveis foram incluídas nas categorias de 1 a 5 (potencial de germinação) e as mortas nas categorias de 6 a 8. Durante a avaliação foi computado também a incidência de danos mecânicos para cada amostra analisada. Torna-se importante comentar que, durante a retirada manual do tegumento foram observadas algumas sementes que apresentavam seu interior totalmente degenerado. Estas sementes foram anotadas e incorporadas aos resultados finais do teste que foram expressos em porcentagem.

### 3.2.2. Germinação

Para a determinação desta característica foi utilizado o teste padrão de germinação. Foram avaliadas duzentas sementes para cada amostra. As sementes foram colocadas em papel toalha, tipo Germitest, umedecido com água destilada, na proporção de 3:1, segundo critério utilizado por BRIGANTE (1988). Foram confeccionados rolos em número de 8, com 25 sementes, sendo considerada como uma repetição. Posteriormente estes rolos foram dispostos em germinador com a temperatura regulada para  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e avaliados no 4º dia após a instalação do teste, segundo critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes, BRASIL (1976). Este procedimento foi utilizado para as amostras de sementes com linter e sementes deslinteradas.

### 3.2.3. Vigor

#### 3.2.3.1. Teste de condutividade elétrica

O teste de condutividade elétrica foi realizado tomando-se quatro repetições de 50 sementes, totalizando 200 sementes por amostra. Estas 50 sementes de cada repetição foram pesadas e colocadas em copos com 250 ml de água destilada, e em seguida foram colocados em um germinador à temperatura constante de  $25^\circ\text{C}$  por um período de 48 horas. Passado este período, na solução contendo os



eletrólitos lixiviados das sementes, foram efetuadas as leituras em uma ponte de condutividade elétrica e transformadas em micro-siemens/grama de sementes ( $\mu\text{s/g}$ ). A fórmula de transformação utilizada foi:

$$\text{Condutividade} = \frac{\text{Condut. total lida} - \text{condut. da água}}{\text{peso das sementes (g)}} \quad (\mu\text{s/g})$$

Nas amostras de sementes com linter, devido a dificuldade de submersão das sementes, utilizou-se o seguinte artifício: foram colocados copos, juntamente com uma porção de água em seu interior sobre os copos com sementes, a fim de garantir a submersão das mesmas, durante o período de 48 horas.

#### 3.2.3.2. Teste de submersão

Foram utilizadas 200 sementes que foram divididas em 4 repetições de 50 sementes em cada amostra. Para cada repetição foi utilizado um copo com 250 ml de água destilada, que juntamente com as 50 sementes foram levadas a um germinador a  $25^{\circ}\text{C}$  por um período de tempo de 48 horas. Após este período as sementes foram submetidas a um teste padrão de germinação, dispostas em 8 rolos de papel toalha tipo Germitest. Foram distribuídas 25 sementes por rolo de papel e levadas a um germinador a  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$  por um período de 4 dias. No final deste período fez-se a leitura segundo

critérios estabelecidos pela Regra para Análise de Sementes, BRASIL (1976).

No caso dos lotes de sementes com linter, para a submersão das sementes, também neste teste foi utilizado o artifício citado no item 3.2.3.1.

#### 3.2.4. Grau de umidade da semente

Para a realização deste teste, foram utilizados os critérios e procedimentos prescritos pelas Regras para Análise de Sementes, BRASIL (1976). Os resultados foram expressos em porcentagem como estabelecido pela R.A.S.

#### 3.2.5. Teste de sanidade de sementes. Incubação em papel de filtro ("Blotter test")

Para este teste utilizou-se placas de Petri de 15 cm de diâmetro, contendo três discos de papel de filtro, umedecidos com água destilada e autoclavada.

Foram usadas 8 placas com 25 sementes cada uma, perfazendo um total de 200 sementes analisadas por amostra. As placas foram incubadas a uma temperatura de 20°C durante oito dias, sob regime alternado de 12 hs de luz fluorescente e 12 hs no escuro. Posteriormente com auxílio de uma lupa ~~estereoscópica~~ ~~estereoscópica~~ foi

feita a identificação dos fungos, determinando-se a porcentagem de cada um deles nas sementes analisadas.

### 3.3. Teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em sementes deslintadas e sementes com linter

Foram utilizadas 5 repetições de 20 sementes, perfazendo um total de 100 sementes por tratamento. Os tratamentos foram montados em esquema fatorial, utilizando-se os fatores amostra, temperatura de embebição e período de tempo de embebição. Para o ensaio de sementes deslintadas o fatorial foi formado pelas 6 amostras x 3 temperaturas (temperatura ambiente, 30°C e 40°C) x 6 períodos de tempo de embebição (1 h, 2 hs, 3 hs, 4 hs, 5 hs e 6 hs), totalizando 108 tratamentos. No ensaio de sementes com linter, o fatorial foi montado da seguinte forma: 6 amostras x 2 temperaturas (temperatura ambiente e 40°C) x 6 períodos de tempo de embebição (1 h, 2 hs, 3 hs, 4 hs, 5 hs e 6 hs), totalizando 72 tratamentos.

Durante a execução dos testes a temperatura ambiente foi medida tendo apresentado uma média de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , enquanto que, as temperaturas de 30 e 40°C foram obtidas com o auxílio de um germinador. Os testes foram realizados sempre no período do dia entre 12 e 18 hs, onde as variações da temperatura ambiente são menores. Os períodos de tempo de embebição utilizados foram estipulados com base em pré-testes realizados. Nestes mesmos

testes preliminares foi observado que as sementes com linter apresentavam grandes dificuldades de submersão. Com o objetivo de amenizar este problema, realizou-se uma pré-embebição por um período de tempo de 15 min. nas sementes com linter. A pré-embebição foi realizada com o auxílio do fundo de copos plásticos que mantinha submersa a porção de sementes a ser submetida ao teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína).

Para a realização do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) nos dois ensaios, as sementes foram colocadas para embeber em água destilada, onde o pH medido estava próximo de 6,0. Para a embebição das sementes foram utilizadas formas plásticas com células individualizadas de fundo côncavo (forma de fabricação de bombons caseiros) de 2,7 cm de diâmetro e 1,8 cm de profundidade. Em cada célula foi colocado 2,0 ml de água destilada e uma semente, tomando-se o cuidado de deixar para cada repetição uma das células somente com água para referência no ato da interpretação. Após os períodos de embebição de cada tratamento, com auxílio de um contagotas, foi adicionado em cada célula, uma gota de solução de fenolftaleína ( $\pm 30$  mg) e uma gota de solução de carbonato de sódio anidro ( $\pm 60$  mg), agitando-se em seguida por meio de um bastão de vidro, procedendo-se a avaliação em função da cor desenvolvida. Em testes preliminares, após a aplicação dos reagentes nos exsudatos das sementes, foram observadas três tonalidades: rosa forte, rosa fraco e incolor, como já mencionado por AMARAL & PESKE (1984). Nestes mesmos testes preliminares, todas as sementes submetidas ao teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) foram marcadas,

colocadas a germinar e avaliadas ao quarto dia. Observou-se que muitas sementes que apresentaram seus exsudatos coloridos de rosa fraco germinavam normalmente. Portanto, com este procedimento procurou-se definir a tonalidade da cor rosa que melhor representa as sementes viáveis, como sugerido por MARCOS FILHO et alii (1987). Constatou-se que as sementes inviáveis apresentavam seus exsudatos coloridos com uma tonalidade muito fraca da cor rosa ou então permaneciam incolores. Para o presente trabalho foram considerados para o estudo apenas as sementes viáveis, ou seja, aquelas sementes que apresentaram seus exsudatos coloridos de rosa forte ou ainda aquelas com a tonalidade próxima da cor rosa, após a aplicação dos reagentes. Após a avaliação do teste, cada semente de uma mesma repetição foi marcada, lavada em água corrente e colocada em papel toalha tipo Germitest umedecidos e levados a um germinador a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Procedeu-se a leitura no 4º dia, permitindo assim obtermos o teste de germinação para cada uma das repetições submetidas ao teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em todos os tratamentos.

#### 3.4. Procedimento estatístico

Para todos os testes foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os testes do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) foram montados em esquemas fatoriais

sendo: 6 x 3 x 6 no ensaio de sementes deslindadas e 6 x 2 x 6 no ensaio de sementes com linter.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Sementes deslintadas

#### 4.1.1. Avaliação das características das sementes

Os resultados apresentados neste item, referem-se a avaliação preliminar das sementes utilizadas no teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína). As características avaliadas como: grau de umidade, germinação, vigor, viabilidade e sanidade das sementes não foram contrastadas entre si, mas, tais avaliações foram realizadas com o intuito de estimar o perfil de cada amostra de sementes. Os resultados encontram-se no Quadro 2 e o resumo da análise de variância no Quadro 1A.

Observa-se pelo Quadro 2 que tanto o teste de germinação padrão, bem como os testes de tetrazólio e de vigor (condutividade elétrica e submersão) aplicados, separaram as amostras em diversos níveis de qualidade, tendo esta qualidade decrescido à medida que houve atraso na colheita, e ao mesmo tempo, pode-se notar também um sensível aumento na incidência de danos mecânicos. Tais resultados são concordantes com os de ALVES (1975), FIGUEIREDO (1971) e

PAOLINELLI (1986). Os testes de vigor e viabilidade, de uma maneira geral, separaram as amostras em seis níveis distintos de qualidade de sementes, embora o teste de germinação padrão tenha indicado três níveis de qualidade. Ainda pelo Quadro 2, observa-se uma tendência de aumento no índice de *Fusarium* sp. para amostras que tiveram sua colheita retardada. É importante ressaltar a uniformidade do grau de umidade entre as amostras de sementes, já que, segundo PESKE & AMARAL (1986) e MARCOS FILHO et alii (1987) diferenças no grau de umidade das sementes podem provocar alterações nos resultados do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) comprometendo sua precisão.

QUADRO 2 - Resultados médios dos testes: Grau de umidade (%), germinação padrão (%), condutividade elétrica ( $\mu\text{s/g}$ ), submersão (%), tetrazólio (%) e sanidade (%), das amostras de sementes deslindadas. ESAL, Lavras-MG, 1991.<sup>1</sup>

Amostras	Grau de umidade (%)	Germinação padrão (%)	Condutividade elétrica ( $\mu\text{s/g}$ )	Submersão (%)	Tetrazólio		Sanidade (%)		
					1-5	Dano mecânico	<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Botryodiplodia</i> sp.
A <sub>1</sub>	9,43	80,0 A	26,91 A	86,0 A	88,0 A	42,8	2,5	5,5	0,0
A <sub>2</sub>	9,88	76,0 A	37,01 A	67,0 B	81,0 AB	40,2	1,0	12,5	2,0
A <sub>3</sub>	9,86	71,0 A	40,89 AB	53,0 C	78,0 ABC	40,6	1,0	29,5	1,0
A <sub>4</sub>	9,89	55,0 B	56,47 C	47,0 CD	68,0 BC	59,3	2,5	24,5	0,5
A <sub>5</sub>	9,73	50,0 B	55,06 BC	39,0 D	62,0 C	61,9	2,5	21,5	2,5
A <sub>6</sub>	10,30	24,0 C	76,11 D	23,0 E	45,0 D	57,8	0,5	34,5	0,0

<sup>1</sup> Em cada coluna, as médias seguidas pelas mesmas letras, não diferiram entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



#### 4.1.2. Teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína)

Os diversos tratamentos aplicados pelo teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) foram submetidos a análise de variância (Quadro 2A) e apresentaram significância segundo o teste F para todos os fatores e suas interações. Foram analisados estatisticamente somente os dados relativos as sementes viáveis, tendo sido suas médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade e os resultados encontram-se nos Quadros 3 e 4. O Quadro 4A refere-se a germinação média das sementes utilizadas no teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em cada tratamento, onde pode-se constatar os diferentes níveis de qualidade das sementes utilizadas e o resumo de sua análise de variância está apresentado no Quadro 3A.

De uma maneira geral, os resultados apresentados por todos os tratamentos seguiram a mesma tendência nas seis amostras de sementes, ou seja, o nível de viabilidade das amostras de diferentes qualidades fisiológicas, avaliadas pelo teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína), decresceu à medida que se aumentou o período de tempo de embebição das sementes, (Quadros 3 e 4), concordando com relatos de AMARAL & PESKE (1984) e BARROS (1988) por ocasião de suas pesquisas com este mesmo teste em sementes de soja. Este fato sugere que após um certo período de tempo de embebição, as sementes mais deterioradas apresentam lixiviação de vários íons, principalmente  $H^+$ , que irão ocasionar menores valores de pH nos seus exsudatos, como relatado por

QUADRO 3 - Resultados médios (x) do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em sementes deslindadas. ESAL, Lavras-MG, 1991.<sup>1</sup>

Amostra	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	A <sub>5</sub>	A <sub>6</sub>	Médias	
AMB*	1 h	93,0 a	90,0 a	93,0 a	93,0 a	89,0 a	73,0 a	88,50 a
	2 hs	85,0 ab	87,0 ab	83,0 ab	82,0 ab	86,0 a	62,0 ab	80,83 b
	3 hs	83,0 ab	86,0 ab	83,0 ab	79,0 ab	77,0 ab	66,0 ab	79,00 b
	4 hs	71,0 bc	87,0 ab	85,0 ab	74,0 b	66,0 bc	63,0 ab	74,33 bc
	5 hs	72,0 bc	82,0 ab	74,0 b	68,0 b	65,0 bc	51,0 bc	68,66 cd
	6 hs	62,0 c	72,0 b	70,0 b	70,0 b	57,0 c	42,0 c	62,16 d
		77,66 AB	84,0 A	81,33 A	77,66 AB	73,33 B	59,50 C	75,58 a
30°C	1 h	77,0 a	90,0 a	84,0 a	84,0 a	69,0 a	23,0 a	71,16 a
	2 hs	71,0 abc	77,0 ab	83,0 a	73,0 a	60,0 ab	14,0 ab	63,00 b
	3 hs	75,0 ab	70,0 b	66,0 b	56,0 b	49,0 b	14,0 ab	55,00 c
	4 hs	59,0 bc	52,0 c	66,0 b	37,0 c	19,0 cd	14,0 ab	41,16 d
	5 hs	55,0 c	39,0 cd	54,0 b	23,0 cd	4,0 d	6,0 b	30,16 e
	6 hs	34,0 d	31,0 d	20,0 d	9,0 d	4,0 d	0,0 b	16,33 f
		61,83 A	59,83 A	62,16 A	47,0 B	34,16 C	11,83 D	46,13 b
40°C	1 h	78,0 a	86,0 a	84,0 a	79,0 a	80,0 a	65,0 a	78,66 a
	2 hs	71,0 a	83,0 ab	76,0 a	75,0 a	56,0 b	37,0 b	66,33 b
	3 hs	52,0 b	67,0 bc	59,0 b	55,0 b	31,0 c	34,0 b	49,66 c
	4 hs	32,0 c	59,0 c	46,0 bc	35,0 c	16,0 cd	6,0 c	32,33 d
	5 hs	10,0 d	27,0 d	40,0 c	15,0 d	14,0 d	8,0 c	19,00 e
	6 hs	12,0 d	45,0 c	11,0 d	2,0 d	6,0 d	6,0 c	13,66 e
		42,50 C	61,16 A	52,66 B	43,50 C	33,83 D	26,0 E	43,27 c
Médias	60,86 B	68,33 A	65,38 A	56,05 C	47,11 D	32,44 E	54,99	

\*AMB = 25 ± 1°C

CV = 16,36%

<sup>1</sup> Em cada linha, as médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas, e em cada coluna as médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, não diferiram entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 4 - Resultados médios (x) do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em sementes deslindadas. ESAL, Lavras-NG, 1991.<sup>1</sup>

Amostra	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	A <sub>5</sub>	A <sub>6</sub>	Médias		
1 h	AMB*	93,0 a A	90,0 a A	93,0 a A	93,0 a A	89,0 a AB	73,0 a B	88,50 a	79,44 a
	30°C	77,0 b AB	90,0 a A	84,0 a AB	84,0 ab AB	69,0 b B	23,0 b C	71,16 c	
	40°C	78,0 b AB	86,0 a A	84,0 a A	79,0 b AB	80,0 ab AB	65,0 a B	78,66 b	
		82,66 A	88,66 A	87,0 A	85,33 A	79,33 A	53,66 B		
2 hs	AMB*	85,0 a A	87,0 a A	83,0 a A	82,0 a A	86,0 a A	62,0 a B	80,83 a	70,0 b
	30°C	71,0 b AB	77,0 a A	83,0 a A	73,0 a AB	60,0 b B	14,0 c C	63,0 b	
	40°C	71,0 b AB	83,0 a A	76,0 a A	75,0 a A	56,0 b B	37,0 b C	66,33 b	
		75,66 AB	82,33 A	80,66 A	76,66 AB	67,33 B	37,66 C		
3 hs	AMB*	83,0 a A	86,0 a A	83,0 a A	79,0 a AB	77,0 a AB	66,0 a B	79,0 a	61,22 c
	30°C	75,0 a A	70,0 b AB	66,0 b AB	56,0 b BC	49,0 b C	14,0 c D	55,0 b	
	40°C	52,0 b A	67,0 b A	59,0 b A	55,0 b A	31,0 c B	34,0 b B	49,66 b	
		70,0 AB	74,33 A	69,33 AB	63,33 B	52,33 C	38,0 D		
4 hs	AMB*	71,0 a AB	87,0 a A	85,0 a A	74,0 a AB	66,0 a B	63,0 a B	74,33 a	49,27 d
	30°C	59,0 a A	52,0 b AB	66,0 b A	37,0 b B	19,0 b C	14,0 b C	41,16 b	
	40°C	32,0 b BC	59,0 b A	46,0 c AB	35,0 b B	16,0 b CD	6,0 b D	32,33 c	
		54,0 B	66,0 A	65,66 A	48,66 B	33,66 C	27,66 C		
5 hs	AMB*	72,0 a AB	82,0 a A	74,0 a AB	68,0 a AB	65,0 a BC	51,0 a C	68,66 a	39,27 e
	30°C	55,0 b A	39,0 b AB	54,0 b A	23,0 b B	4,0 b C	6,0 b C	30,16 b	
	40°C	10,0 c C	27,0 b AB	40,0 c A	15,0 b BC	14,0 b BC	8,0 b C	19,0 c	
		45,66 B	49,33 AB	56,0 A	35,33 C	27,66 CD	21,66 D		
6 hs	AMB*	62,0 a A	72,0 a A	70,0 a A	70,0 a A	57,0 a AB	42,0 a B	62,16 a	30,70 f
	30°C	34,0 b A	31,0 c A	20,0 b AB	9,0 b BC	4,0 b BC	0,0 b C	16,33 b	
	40°C	12,0 c B	45,0 b A	11,0 b B	2,0 b B	6,0 b B	6,0 b B	12,66 b	
		36,0 B	49,33 A	33,66 B	27,0 BC	22,33 CD	16,0 D		
Médias	60,66 B	68,33 A	65,38 A	56,05 C	47,11 D	32,44 E	54,99		

\*AMB = 25 ± 1°C

CV = 16,36%

<sup>1</sup> Em cada linha, as médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas, e em cada coluna as médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, não diferiram entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

LOOMIS & SMITH (1980). Durante a execução do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) foi observado que a tonalidade da cor rosa se apresentava mais fraca para as amostras de qualidade inferior, principalmente nos maiores períodos de tempo de embebição das sementes. Este fato também foi observado por BARROS (1988), quando trabalhou com o teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em sementes de soja. Sementes com tegumentos danificados, ainda que viáveis, foram dadas como inviáveis no teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) nos períodos de tempo de embebição superiores a 2 horas em temperaturas de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  ambiente e  $30^\circ\text{C}$ ; já na temperatura de  $40^\circ\text{C}$  este fato foi observado na primeira hora de embebição das sementes. Com base nisto, pode-se inferir que sementes que tenham danos em seus tegumentos poderão contribuir para a falta de precisão dos resultados, pois a incidência de danos nas sementes poderão proporcionar maior lixiviação dos metabólitos, como observa POWELL (1986).

Observa-se pelo Quadro 4 que houve diferenças nas respostas dos seis períodos de tempo de embebição das sementes no teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína). Estas diferenças podem ainda ser observadas dentro de cada temperatura, sendo que, as maiores diferenças foram obtidas nas temperaturas de  $30$  e  $40^\circ\text{C}$  (Quadro 3). Os períodos de tempo de embebição acima de 2 hs separaram as seis amostras em pelo menos três níveis de qualidade, no entanto, o período de tempo de 1 h de embebição separou somente a amostra de pior qualidade fisiológica (Quadro 4) não apresentando semelhança com os resultados dos testes utilizados para a avaliação

das sementes. O aumento da temperatura de embebição proporcionou diferentes respostas (Quadro 3). As temperaturas mais elevadas (30 e 40°C) provocaram maior lixiviação dos agentes causadores da redução do pH dos exsudatos (medidos pelo indicador) das sementes, principalmente nos períodos de tempo de embebição superiores a 3 horas e notadamente nas amostras de qualidade fisiológica inferiores. Em consequência, nestas temperaturas todas as amostras tiveram suas viabilidades subestimadas a partir da quarta hora de embebição, se comparadas aos índices apresentados pelo teste de germinação padrão e teste de tetrazólio. Foram observadas muitas sementes com seus tegumentos rompidos a partir da quarta hora de embebição nas temperaturas mais elevadas (30 e 40°C), o que pode ter proporcionado maior lixiviação dos agentes causadores da redução do pH dos exsudatos. Este fato pode ser explicado pelo aumento da velocidade de embebição, quando esta se processa em temperaturas mais elevadas, como sugerem MAYER (1975) e POPINIGIS (1985), podendo levar ao rompimento do tegumento da semente causada pela pressão de embebição (CARVALHO & NAKAGAWA, 1980). Todavia, a 30°C os efeitos da temperatura sobre o teste do pH do exsudato foram menos drásticos que a 40°C, no entanto, nestas temperaturas após 4 horas de embebição a determinação da porcentagem de viabilidade pelo teste de pH do exsudato (teste de fenolftaleína) mostrou-se inadequado.

Os resultados dos tratamentos envolvendo a temperatura ambiente ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) apontaram certa inadequabilidade de estimar a viabilidade real das amostras, superestimando a viabilidade de cada

uma delas quando comparados aos índices de germinação padrão e teste de tetrazólio. Este fato foi verificado principalmente em amostras de qualidade fisiológica inferior (Quadro 3), os quais estão de acordo com os resultados encontrados por BARROS (1988). Não foram observadas sementes com seus tegumentos rompidos nesta temperatura de embebição. De maneira generalizada, foi observado que as sementes que apresentavam descolorações no tegumento quando colocadas para embeber, tornavam-se desestruturadas, perdendo sua rigidez em curtos períodos de tempo de embebição, principalmente quando em temperaturas mais elevadas (30 e 40°C). Estas sementes não apresentaram coerência de resultados, quando submetidas ao teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína), ou seja, muitas destas sementes que apresentavam seus exsudatos incolores, originavam posteriormente plântulas normais quando colocadas a germinar, outras tantas, tinham seus exsudatos coloridos pelo teste e, no entanto não germinavam. Estas sementes quando submetidas ao teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) poderão contribuir para a falta de precisão dos resultados.

Os tratamentos aplicados pelo teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína), de uma maneira geral, separaram as amostras em vários níveis de qualidade fisiológica, concordando com os resultados obtidos nos testes utilizados para se estimar o perfil das amostras de sementes, indicando a viabilidade da utilização deste teste para separação de lotes de diferentes qualidades fisiológicas de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) deslindadas quimicamente (Quadro 4). Analisando cada

tratamento, observa-se que apesar da capacidade de separação de diferentes níveis de qualidade de sementes, muitos tratamentos superestimaram o perfil de cada amostra, enquanto outros, subestimaram o mesmo. Observa-se pelos Quadros 2 e 4 que os tratamentos que mais se assemelharam com a separação dos níveis de qualidade obtidos pelo teste padrão de germinação, considerando a temperatura ambiente ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ), foram nos períodos de embebição de 3 e 5 horas. No entanto, os resultados médios destes tratamentos apontaram tendências em superestimar o perfil das amostras quando comparados ao teste de tetrazólio, sendo que na temperatura ambiente o período de embebição de 5 horas foi o que mais se assemelhou com o perfil das amostras de sementes, inclusive aos resultados do teste de tetrazólio. Os resultados dos tratamentos envolvendo as temperaturas de 30 e 40°C devem ser considerados somente nos períodos de tempo de embebição inferiores a 4 horas, já que, a partir deste período de tempo de embebição todos os resultados médios do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) nestas temperaturas subestimaram o perfil das amostras de sementes, provavelmente pela alta incidência de rompimento dos tegumentos das sementes, fato que inviabiliza a aplicação do teste.

Considerando a temperatura de 30°C, os resultados médios do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) nos períodos de tempo de embebição de 2 e 3 hs foram os que mais se assemelharam ao perfil das amostras, proporcionando uma separação mais semelhante aos resultados do teste de tetrazólio do que aos

resultados do teste padrão de germinação, embora nestes períodos de tempo os resultados do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em algumas amostras tenham superestimado os índices de viabilidade tanto do teste germinação padrão quanto do teste de tetrazólio. No entanto, na temperatura de 30°C o período de tempo de embebição de 3 hs foi o que correlacionou melhor com o perfil das amostras. Na temperatura de 40°C os resultados relativos ao período de tempo de embebição por 2 hs foram os que mais se aproximaram dos resultados do perfil das amostras se comparados aos índices apresentados pelos testes de germinação padrão e tetrazólio.

## 4.2. Sementes com linter

### 4.2.1. Avaliação das características das sementes

Foram avaliadas as seguintes características: Grau de umidade das sementes, germinação, vigor, viabilidade e sanidade. As avaliações foram feitas com o intuito de estimar o perfil de cada amostra de sementes. Os resultados estão apresentados no Quadro 5 e o resumo de suas análises de variância encontram-se no Quadro 1A.



QUADRO 5 - Resultados médios dos testes: Grau de umidade (%), germinação padrão (%), condutividade elétrica ( $\mu\text{s/g}$ ), submersão (%), tetrazólio (%) e sanidade (%) das amostras de sementes com linter. ESAL, Lavras-MG, 1991.<sup>1</sup>

Amostras	Grau de umidade (%)	Germinação padrão (%)	Condutividade elétrica ( $\mu\text{s/g}$ )	Submersão (%)	Tetrazólio		Sanidade (%)		
					1-5	Dano mecânico	<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Botryodiplodia</i> sp.
A <sub>1</sub>	9,35	83,0 A	24,25 AB	84,0 A	88,0 A	42,8	0,5	21,5	0,0
A <sub>2</sub>	9,32	68,0 B	24,24 AB	74,0 AB	81,0 AB	40,2	0,0	30,0	0,5
A <sub>3</sub>	9,16	63,0 BC	29,30 AB	64,0 BC	78,0 ABC	40,6	0,0	78,0	0,0
A <sub>4</sub>	9,45	54,0 CD	36,42 B	48,0 D	68,0 BC	59,3	0,0	58,5	0,0
A <sub>5</sub>	9,16	43,0 D	20,52 A	57,0 CD	62,0 C	61,9	0,0	50,5	0,0
A <sub>6</sub>	9,70	30,0 E	50,71 C	32,0 E	45,0 D	57,8	0,5	60,0	0,0

<sup>1</sup> Em cada coluna, as médias seguidas pelas mesmas letras, não diferiram entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Observa-se pelo Quadro 5 que todas as amostras de sementes foram consideradas diferentes entre si sobre o aspecto potencial de germinação, detectado pelo teste padrão de germinação. Os testes de submersão e tetrazólio também indicaram estas diferenças de qualidade entre as amostras de sementes, no entanto, o teste de condutividade elétrica não foi eficiente para separar amostras que apresentaram pequenas diferenças de qualidade fisiológica das sementes. Observa-se ainda um nítido decréscimo na qualidade das sementes com o retardamento da colheita. Resultados similares também foram encontrados por ALVES (1975), FIGUEIREDO (1981) e PAOLINELLI (1986). O grau de umidade das sementes das várias amostras apresentou-se bastante uniforme, sendo este fato de grande importância para a precisão dos resultados do teste do pH do

exsudato (teste de fenolftaleína).

A incidência de *Fusarium* sp. aumentou sensivelmente com o retardamento da colheita, enquanto que, os índices de *Colletotrichum* sp. e *Botryodiplodia* sp. se mantiveram constantes ou ausentes nas amostras analisadas.

#### 4.2.2. Teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína)

Os diversos tratamentos aplicados pelo teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) foram submetidos a análise de variância (Quadro 5A) e apresentaram significância segundo o teste F para todos os fatores e suas interações. Foram analisados estatisticamente somente os dados relativos às sementes viáveis, tendo sido suas médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade e os resultados encontram-se nos Quadros 6 e 7. O Quadro 7A refere-se ao potencial de germinação médio das sementes utilizadas no teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em cada tratamento, onde pode-se constatar os diferentes níveis de qualidade das sementes utilizadas e o resumo de sua análise de variância está apresentado no Quadro 6A.

QUADRO 6 - Resultados médios (%), do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em sementes com linter. ESAL, Lavras-MG, 1991.<sup>1</sup>

Amostra	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	A <sub>5</sub>	A <sub>6</sub>	Médias	
AMB*	1 h	94,0 a	86,0 a	94,0 a	93,0 a	90,0 a	84,0 a	90,16 a
	2 hs	88,0 a	90,0 a	87,0 ab	84,0 a	90,0 a	77,0 ab	86,0 ab
	3 hs	79,0 a	84,0 a	78,0 b	82,0 a	82,0 ab	68,0 bc	78,83 cd
	4 hs	88,0 a	83,0 a	78,0 b	79,0 a	84,0 ab	74,0 ab	81,0 bc
	5 hs	84,0 a	87,0 a	81,0 ab	80,0 a	74,0 b	70,0 abc	79,33 cd
	6 hs	80,0 a	75,0 a	81,0 ab	81,0 a	70,0 a	57,0 c	74,0 d
		85,50 A	84,16 A	83,16 A	83,16 A	81,16 A	71,66 B	81,55 a
30 °C	1 h	94,0 a	88,0 a	96,0 a	91,0 a	85,0 a	88,0 a	90,33 a
	2 hs	93,0 a	94,0 a	86,0 abc	83,0 ab	78,0 ab	80,0 a	85,66 ab
	3 hs	90,0 a	91,0 a	83,0 abc	77,0 ab	81,0 ab	58,0 b	80,0 bc
	4 hs	91,0 a	88,0 a	87,0 ab	73,0 b	72,0 abc	46,0 b	76,16 cd
	5 hs	80,0 a	87,0 a	78,0 bc	73,0 b	58,0 c	49,0 b	70,83 de
	6 hs	84,0 a	85,0 a	71,0 c	70,0 b	69,0 bc	26,0 c	67,50 e
		88,66 A	88,83 A	83,50 AB	77,83 BC	73,83 C	57,83 D	78,41 b
Médias	87,08 A	86,50 A	83,33 AB	80,50 BC	77,75 C	64,75 D	79,98	

\*AMB = 25 ± 1°C

CV = 11,09%

<sup>1</sup> Em cada linha, as médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas, e em cada coluna as médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, não diferiram entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 7 - Resultados médios (x) do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) em sementes com linter. ESAL, Lavras-MG, 1991.<sup>1</sup>

Amostra	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	A <sub>5</sub>	A <sub>6</sub>	Médias	
1 h AMB* 40°C	94,0 a A	86,0 a A	94,0 a A	93,0 a A	90,0 a A	84,0 a A	90,16 a	90,24 a
	94,0 a A	88,0 a A	96,0 a A	91,0 a A	85,0 a A	85,0 a A	90,33 a	
	94,0 A	87,0 A	95,0 A	92,0 A	87,50 A	86,0 A		
2 hs AMB* 40°C	88,0 a A	90,0 a A	87,0 a A	84,0 a A	90,0 a A	77,0 a A	86,0 a	85,83 a
	93,0 a AB	94,0 a A	86,0 a AB	83,0 a AB	78,0 b B	80,0 a AB	85,66 a	
	90,50 A	92,0 A	86,50 AB	83,50 AB	84,0 AB	78,50 B		
3 hs AMB* 40°C	79,0 b AB	84,0 a A	78,0 a AB	82,0 a AB	82,0 a AB	68,0 a AB	78,83 a	79,41 b
	90,0 a A	91,0 a A	83,0 a A	77,0 a A	81,0 a A	58,0 a B	80,0 a	
	84,50 A	87,50 A	80,50 A	79,50 A	81,50 A	63,0 B		
4 hs AMB* 40°C	88,0 a A	83,0 a A	78,0 a A	79,0 a A	84,0 a A	74,0 a A	81,0 a	78,58 b
	91,0 a A	88,0 a AB	87,0 a ABC	73,0 a BC	72,0 b C	46,0 b D	76,16 b	
	89,50 A	85,50 AB	82,50 AB	76,0 B	78,0 B	60,0 C		
5 hs AMB* 40°C	84,0 a AB	87,0 a A	81,0 a AB	80,0 a AB	74,0 a AB	70,0 a B	79,33 a	75,08 bc
	80,0 a A	87,0 a A	78,0 a A	73,0 a AB	58,0 b BC	49,0 b C	70,83 b	
	82,0 A	87,0 A	79,50 A	76,50 AB	66,0 BC	59,50 C		
6 hs AMB* 40°C	80,0 a A	75,0 a A	81,0 a A	81,0 a A	70,0 a AB	57,0 a B	74,0 a	70,75 c
	84,0 a AB	85,0 a A	71,0 a AB	70,0 b AB	69,0 a B	26,0 b C	67,5 b	
	82,0 A	80,0 AB	76,0 AB	75,50 AB	69,50 B	41,50 C		
Médias	87,08 A	86,50 A	83,33 AB	80,50 BC	77,75 C	64,75 D	79,98	

\*AMB = 25 ± 1°C

CV = 11,09%

<sup>1</sup> Em cada linha, as médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas, e em cada coluna as médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, não diferiram entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De uma maneira geral, os resultados apresentados por todos os tratamentos seguiram a mesma tendência, ou seja, o nível de viabilidade das amostras de sementes de diferentes qualidades fisiológicas avaliadas pelo teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) decresceu à medida que se aumentou o período de tempo de embebição das sementes (Quadro 7). No entanto, as diferenças estatísticas só foram detectadas a partir da amostra 3 (Quadro 6).

O período de tempo de embebição de 1 h não proporcionou a detecção de diferentes níveis de qualidade entre as amostras. Estas diferenças só foram apontadas a partir de 2 hs de embebição das sementes, sendo que as amostras foram separadas em, no máximo quatro níveis de qualidade (Quadro 7). Entretanto, todos os seis períodos de tempo de embebição aplicados, superestimaram substancialmente os índices dos testes de germinação padrão e tetrazólio nas seis amostras de sementes, indicando baixos níveis de lixiviação do agente causador da redução do pH dos exsudatos das sementes, mesmo nas amostras de baixa qualidade. Não foram observadas sementes com tegumentos rompidos em nenhum dos períodos de tempo de embebição, mesmo naqueles tratamentos que envolveram a temperatura de 40°C. As injúrias severas e rachaduras nos tegumentos das sementes foram detectadas pelo teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) somente nos períodos de tempo de embebição superiores a 4 horas à temperatura de 40°C, quando então, os exsudatos destas sementes permaneceram incolores após a aplicação dos reagentes.

Observa-se pelo Quadro 6 que as temperaturas ambiente ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e  $40^\circ\text{C}$  proporcionaram sensíveis diferenças nas respostas do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína), sendo que a temperatura ambiente só foi capaz de separar a amostra de pior qualidade de sementes (amostra 6), enquanto que a temperatura de  $40^\circ\text{C}$  separou as amostras em cinco níveis de qualidade, embora tenha superestimado os índices de viabilidade apresentados pelos testes de germinação padrão e tetrazólio. Ainda pode ser observado no Quadro 7 que as diferenças proporcionadas pelas temperaturas, só foram detectadas estatisticamente a partir da quarta hora de embebição das sementes.

Os tratamentos aplicados pelo teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína), de uma maneira geral, separaram as amostras em cinco níveis de qualidade fisiológica, no entanto, a grande maioria dos resultados médios superestimaram os índices apresentados pelos testes de germinação padrão e tetrazólio (Quadros 5 e 7). Observa-se pelo Quadro 7 que na temperatura ambiente ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) só foi detectada diferença na qualidade das amostras analisadas a partir da terceira hora de embebição das sementes e as amostras foram separadas em no máximo três níveis de qualidade, enquanto que o perfil das amostras apontavam seis níveis. Portanto, o teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) aplicado à temperatura ambiente ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) não se mostrou capaz de detectar diferenças sensíveis de qualidade fisiológica, nos períodos de tempo de embebição estudados, ou seja, entre 1 e 6 horas de embebição. Os tratamentos envolvendo a

temperatura de 40°C proporcionaram a separação dos níveis de viabilidade das amostras a partir da segunda hora de embebição das sementes, sendo que, o período de tempo de embebição de 4 hs separou as amostras em seis níveis de qualidade concordando com os testes de germinação padrão e tetrazólio, embora tenha superestimado os índices apresentados por todos estes testes em cada amostra.

#### 4.3. Considerações finais

O teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína) se mostrou viável para a avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) deslintadas quimicamente, já que detecta os diferentes níveis de qualidade fisiológica de sementes à semelhança dos testes de germinação padrão e tetrazólio, indicando maior ou menor lixiviação dos agentes causadores da redução do pH dos exsudatos, consequentemente mantém uma alta relação entre as cores dos exsudatos e a viabilidade das sementes, após a aplicação do teste. Esta mesma relação não foi observada em sementes com linter, já que muitas sementes com linter que apresentavam seus exsudatos coloridos de rosa forte, quando colocados a germinar originaram plântulas anormais ou simplesmente não germinavam, motivo pelo qual, o teste do pH do exsudato (teste fenolftaleína) superestimou o perfil de cada amostra. Sugere-se que esta baixa relação cor-viabilidade seja atribuída à presença do linter, que dificulta a submersão das

sementes durante o teste, impedindo uma maior superfície de contato entre a água e a semente propriamente dita. A importância da área de contato água/semente no processo de embebição é evidenciado por POPINIGIS (1985) quando relata que "outros fatores sendo constantes, a velocidade de embebição é proporcional a superfície de contato entre a semente e a água". Pode-se inferir que, em consequência da dificuldade de embebição das sementes com linter, a lixiviação do agente causador da redução do pH do exsudato das sementes, ocorreria a níveis muito baixos, não possibilitando sua detecção pelo indicador (fenolftaleína) na maioria dos exsudatos das sementes inviáveis. Esta inferência pode ser baseada nos relatos de SIMON & HARUN (1972) quando comentam que a exsudação inicia-se assim que o embrião começa a beber e os eletrólitos exsudados partem de dentro do embrião.

Com base neste trabalho não se pode afirmar com solidez, algo sobre a interferência da sanidade das sementes nos resultados do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína). Acredita-se que trabalhos devam ser desenvolvidos neste sentido.



## 5. CONCLUSÕES

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

1. O teste de pH de exsudato (teste de fenolftaleína) apresentou-se viável para separar lotes de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), de diferentes níveis de qualidade.

2. O teste de pH de exsudato (teste de fenolftaleína) aplicado em sementes deslintadas quimicamente proporcionou a separação de lotes de diferentes níveis de qualidade, mostrando potencialidade de estimar a viabilidade das sementes. No entanto, quando aplicado em sementes com linter, não apresentou capacidade de estimar a viabilidade das sementes, embora tenha sido capaz de separar lotes de diferentes níveis de qualidade.

## 6. RESUMO

### VIABILIDADE DA UTILIZAÇÃO DO TESTE DE pH DE EXSUDATO NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE ALGODÃO (*Gossypium hirsutum* L.)

Autor: Carlos Alberto Machado Carvalho

Orientador: Prof. Antônio Carlos Fraga

Com o objetivo de avaliar a viabilidade de aplicação do teste de pH do exsudato (teste de fenolftaleína) para sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), foi realizado um trabalho em um dos campos experimentais e no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras-MG.

Foram obtidas amostras de sementes de diferentes níveis de qualidade fisiológicos retardando-se a colheita em intervalos de 15 dias, para cada uma delas. As diferenças de qualidade entre as amostras foram constatadas com a aplicação de testes de vigor, viabilidade e germinação padrão. Foram realizados dois ensaios, com tratamentos do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína)

montados em esquema fatorial utilizando-se seis períodos de tempo de embebição (1 h, 2 hs, 3 hs, 4 hs, 5 hs e 6 hs), seis amostras de sementes e três temperaturas de embebição ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$  ambiente,  $30^\circ\text{C}$  e  $40^\circ\text{C}$  para sementes deslintadas quimicamente) ou duas temperaturas de embebição ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$  ambiente e  $40^\circ\text{C}$  para sementes com linter). Foram analisadas somente as sementes consideradas viáveis pelo teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína).

O aumento do período de tempo de embebição proporcionou a redução do pH nos exsudatos das sementes, tendo este fator apresentado alta dependência da temperatura de embebição.

Os resultados mostraram a viabilidade do teste de pH de exsudato (teste de fenolftaleína) para separar lotes de diferentes níveis de qualidade em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.). O teste aplicado em sementes deslintadas quimicamente mostrou potencialidade para estimar a viabilidade das sementes, enquanto que, quando aplicado em sementes com linter apontou capacidade de separação de lotes de diferentes níveis de qualidade.

## 7. SUMMARY

### UTILIZATION OF THE EXUDATE pH TEST FOR THE EVALUATION OF COTTON (*Gossypium hirsutum* L.) SEEDS QUALITY

Author: Carlos Alberto Machado Carvalho

Advisor: Prof. Antônio Carlos Fraga

The purpose of this study was to evaluate the utilization of the exudate pH test (phenolphthaleine test) in cotton seeds. The research was performed at the Seed Analysis Laboratory in the Agriculture Department of Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras-MG, Brazil.

Samples were obtained from seeds having different levels of physiological quality by harvesting the seeds at fifteen-days intervals. Differences in seed quality were confirmed using vigor tests, viability, and standard germination. Two trials using the exudate pH test were carried out in a factorial scheme with six imbibition time periods (1h, 2h, 3h, 4h, 5h, and 6h), six seed samples, and three imbibition temperatures ( $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}$  and  $40^{\circ}\text{C}$  for chemically cleaned seeds) or two imbibition temperatures ( $25 \pm$

1°C and 40°C for seeds with linter). Only viable seeds were considered for the exudate pH test.

Increasing imbibition time periods resulted in reduction of the seeds exudate pH and this factor presented a great dependence of the imbibition temperature.

The results showed that the exudate pH test could be used to distinguish among cotton seeds with different qualities. When applied to chemically cleaned seeds the test also proved to be of worth to estimate seeds viability.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ABDUL-BAKI, A.A. & ANDERSON, J.D. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Science*, Madison, 13(6):630-3, Nov./Dec. 1973.
02. ALIZAGA, R.L.; MELO, V.D.C.; SANTOS, D.S.B. dos & IRIGON, D.L. Avaliação de testes de vigor em sementes de feijão e suas relações com a emergência a campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 6, Brasília, 1989. *Resumo dos trabalhos técnicos...* Brasília, ABRATES, 1989. p.60.
03. ALVES, E.J. *Maturação e qualidade fisiológica da semente de algodão (Gossypium hirsutum L.)*. Viçosa, UFV, 1975. 46p. (Tese MS).
04. AMARAL, A.S. & PESKE, S.T. pH do exsudato para avaliar a viabilidade das sementes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 4, Brasília, 1985. *Resumos...* Brasília, ABRATES, 1985. p.54.

05. AMARAL, A.S. & PESKE, S.T. pH do exsudato para estimar, em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, 6(3):85-92, 1984.
06. \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_. pH como parâmetro para estimar a germinação de sementes de soja. Passo Fundo, APASSUL, 1984a. 4p. (APASSUL Boletim Informativo V.1, nº 1).
07. ANTEPARA, H.V.E. Caracterização e avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja através do tetrazólio. Pelotas, U.F.P., 1979. 81p. (Tese MS).
08. BARROS, A.S.R. do. Testes para avaliação rápida da viabilidade e do vigor de sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Piracicaba, ESALQ, 1988. 140p. (Tese MS).
09. BRASIL. Ministério da Agricultura. Regras para Análise de Sementes. s.l, AGIPLAN, 1976. 188p.
10. BRIGANTE, G.P. Efeitos da época e da localização da colheita na planta, sobre a produção, qualidade da fibra e das sementes do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). Lavras, ESAL, 1988. 113p. (Tese MS).





11. CARVALHO, N.M. de & NAKAGAWA, J. Sementes - Ciência, tecnologia e produção. Campinas, Fundação Cargill, 1980. 326p.
12. CHRISTIANSEN, M.N. & MOORE, R.P. Seed coat structural differences that influence water uptake and seed quality in hardseeded cotton. *Agronomy Journal*, Madison, 51:582-4, 1959.
13. CORRÊA, F.A. A fibra e os subprodutos. In: Instituto Brasileiro de Potassa. *Cultura e adubação do algodoeiro*. São Paulo, 1965. p.509-40.
14. DELOUCHE, J.C. & BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative stability of seed lots. *Seed Science and Technology*, Zurich, 1(2):427-52, 1973.
15. ———; STILL, T.W.; RASPET, M. & LIENHARD, M. O teste de tetrazólio para a viabilidade da semente. Brasília, AGIPLAN, 1976. 103p.
16. DE ROBERTIS, E.D.P. & DE ROBERTIS JR., E.M.F. *Bases da Biologia Celular e Molecular*. Rio de Janeiro, Guanabara, 1986. 332p.

17. DUKE, S.H. & KAKEFUDA, G. Role of the test in preventing cellular rupture during inhibition of legume seed. *Plant Physiology*, Baltimore, 67(3):449-56, Mar. 1981.
18. 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, Gramado, 1987. Resumos... Brasília, ABRATES, 1987. p.80.
19. FIGUEIREDO, A.F. Qualidade das sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) cultivadas em Minas Gerais. Lavras, ESAL, 1981. 59p. (Tese MS).
20. FRANCO, D.F.; PETRINI, J.A.; AMARAL, A.S. Novo teste de viabilidade em sementes de soja; teste de timerosal. Pelotas, EMBRAPA-UEPAE de Pelotas, 1984. 3p. (Pesquisa em andamento, 10).
21. GRIDI-PAPP, I.L. Botânica e Genética. In: Instituto Brasileiro de Potassa. Cultura e adubação do algodoeiro. São Paulo, 1965. p.117-57.
22. HEYDECKER, W. Vigour. In: ROBERTS, G.H., ed. *Viability of seeds*. London, Chapman and Hall, 1974. p.209-52.

23. HIBBARD, R.P. & MILLER, E.V. Biochemical studies on seed viability. 1. Measurements of conductance and reduction. *Plant Physiology*, Washington, 3:335-52, 1928.
24. HOLTZMAN, E. & NOVIKOFF, A.B. *Células e estrutura celular*. 2.ed., Rio de Janeiro, Guanabara, 1985. 630p.
25. LIMA, E.F.; CARVALHO, L.P. de & CARVALHO, J.M.F.C. Comparação de métodos de análise sanitária e ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 7(3):401-6, out. 1982.
26. ———; CARVALHO, J.M.F.C.; CARVALHO, L.P. de & COSTA, J.N. da. Transporte e transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *Cephalosporioides*, através de sementes de algodoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 10(1):105-15, fev. 1985.
27. LOOMIS, E.L. & SMITH, O.E. The effect of artificial aging on the concentration of Ca, Mg, Mn, K and Cl in imbibing Cabbage seed. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Mount, 105(5):647-50, 1980.
28. MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M. & SILVA, W.R. da. *Avaliação da qualidade das sementes*. Piracicaba, FEAQ, 1987. 230p.

29. MARCOS FILHO, J.; PESCARIN, H.M.C.; KOMATSU, Y.H.; DEMETRIO, C.G.B. & FANCELLI, A.L. Testes para avaliação do vigor de sementes de soja e suas relações com a emergência das plântulas em campo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 19(5): 605-13, maio 1984.
30. MATTHEWS, S. & BRADNOCK, W.T. Relationship between seed exudation and field emergence in peas and french beans. *Horticulture Research*, Edinburgh, 8:89-93, 1968.
31. MAYER, A.M. & POLJAKOFF-MAYBER, A. Factors affecting germination. In: MAYER, A.M. & POLJAKOFF-MAYBER, A., ed. *The germination of seeds*. 2.ed. Oxford, Pergamon Press, 1975. p.21-45.
32. PAOLINELLI, G. de P. Influência de três épocas de colheita sobre a qualidade fisiológica de sementes de algodão em Minas Gerais. *Revista Brasileira de Sementes*. Brasília, 8(2):77-83, 1986.
33. PARRISH, D.J. & LEOPOLD, A.C. Transient changes during soybean imbibition. *Plant Physiology*, Baltimore, 59(1):1111-5, Jan. 1977.
34. PASSOS, S.M. de G. Algodão. Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. Campinas, 1977. 424p.

35. PATIL, V.N.; ANDREWS, C.H. Cotton seeds resistant to water absorption and seed deterioration. *Seed Science and Technology*, New Delhi, 13(1):193-99, 1985.
36. PERL, M. & FEDER, Z. Cotton seed quality prediction with the automatic seed analyzer. *Seed Science and Technology*, New Delhi, 11:273-80, 1983.
37. PESKE, S.T. & AMARAL, A.S. Prediction of the germination of soybean seeds by measurement of the pH of seed exsudates. *Seed Science and Technology*, New Delhi, 14:151-56, 1986.
38. POPINIGIS, F. *Fisiologia da Semente*. Brasília, AGIPLAN, 1985. 289p. .
39. POWELL, A.A. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed for sowing. *Journal of Seed Technology*, Lansing, 10(2):81-100, 1986.
40. ROOS, E.E. & POLLOCK, B.M. Soaking injury in Lima beans. *Crop Science*, Madison, 2:78-81, Jan./Feb. 1971.
41. SIMON, E.W. & HARUN, R.M.R. Leakage during seed imbibition. *Journal of Experimental Botany*. London, 23(77):1076-85, Jan./July 1972.

42. SOAVE, J. Diagnóstico da patologia de sementes de algodoeiro no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 1, Piracicaba, 1984. Anais... Piracicaba, s.ed., 1984. 83p.
43. TANAKA, M.A.S.; PAOLINELLI, G.P. Avaliação sanitária e fisiológica de sementes de algodão produzidas em Minas Gerais. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, 6(1):71-81, 1984.
44. TAO, K.L. Factors causing variations in the conductivity test for soybean seeds. Journal of Seed Technology, East Lansing, 3:10-8, 1978.
45. TOLEDO, F.F. de & MARCOS FILHO, J. Manual das sementes - tecnologia da produção. São Paulo, Agronômica Ceres, 1977. 224p.
46. VIEIRA, R.D. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de quatorze cultivares de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1980. 76p. (Tese MS).
47. WALLER, A.D. An attempt to estimate the viability of the seed by an electrical method. Proc. Roy. Soc., 68:79-92, 1901.

48. WOODSTOCK, L.W. Physiological and biochemical tests for seed vigor. *Seed Science and Technology*, Norway, 1(1):127-57, 1973.
49. ——— & TAYLORSON, R.B. Ethanol and acetaldehyde in imbibing soybean seeds in relation to deterioration. *Plant Physiology*, Washington, 67:424-28, 1981.

## APÊNDICE



QUADRO 1A - Resumo da análise de variância para os dados referentes aos testes de: Germinação padrão (%), condutividade elétrica ( $\mu/g$ ), submersão (%) e tetrazólio (%). ESAL, Lavras-MG, 1991.

F.V.	G.L.	Quadrados médios		
		Sementes deslindadas	Sementes com linter	
Germinação Padrão	Amostras	5	1.728,1666**	1.409,3666**
	Erro	18	27,0555	28,2777
	C.V. (%)		8,82	9,39
	DMS		11,67	11,93
Condutividade Elétrica	Amostras	5	1.219,5552**	497,3933**
	Erro	18	46,717271	34,96196
	C.V. (%)		14,02	19,12
	DMS		15,34	13,27
Submersão	Amostras	5	1.956,1667**	1390**
	Erro	18	38,83331	29,8889
	C.V. (%)		11,88	9,11
	DMS		13,99	12,27
Tetrazólio	Amostras	5	961,066**	961,066**
	Erro	18	54,66685	54,66685
	C.V. (%)		10,50	10,50
	DMS		16,59	16,59

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

DMS = Tukey 5%

QUADRO 2A - Resumo da análise de variância para os dados de viabilidade (%), de sementes deslintadas, avaliados pelo teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína). ESAL, Lavras-MG, 1991.

F.V.	G.L.	Quadrados médios
Amostra (A)	5	15,988,848**
Tempo (T)	5	31.115,471**
A x T	25	415,865**
Temperatura de embebição (T')	2	57.466,622**
A x T'	10	1.540,92 **
T x T'	10	2.415,940**
A x T x T'	50	264,679**
Erro	432	81,016
Total	539	

C.V. = 16,36%

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

QUADRO 3A - Resumo da análise de variância para os dados de germinação (%), de sementes deslintadas que foram submetidas ao teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína). ESAL, Lavras-MG, 1991.

F.V.	G.L.	Quadrados médios
Amostra (A)	5	32.310,959**
Tempo (T)	5	92.389NS
A x T	25	122,231NS
Temperatura de embebição (T')	2	216,292NS
A x T'	10	46,264NS
T x T'	10	79,806NS
A x T x T'	50	78,325NS
Erro	432	97,305
Total	539	

C.V. = 15,37%

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

NS Estatisticamente não significativo.

QUADRO 4A - Resultados médios (%), do teste de germinação das sementes deslindadas que foram submetidas ao teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína). EBAL, Lavras-MG, 1991.<sup>1</sup>

Amostras	1	2	3	4	5	6	
1 h	AMB*	91,0 A	75,0 AB	71,0 B	65,0 BC	50,0 C	28,0 D
	30 °C	80,0 A	81,0 A	70,0 AB	61,0 B	53,0 B	29,0 C
	40 °C	89,0 A	82,0 A	73,0 AB	64,0 BC	49,0 CD	35,0 D
2 hs	AMB*	90,0 A	74,0 AB	78,0 AB	61,0 BC	46,0 C	26,0 D
	30 °C	88,0 A	78,0 AB	70,0 BC	61,0 BC	53,0 C	32,0 D
	40 °C	89,0 A	77,0 AB	73,0 AB	62,0 B	60,0 B	39,0 C
3 hs	AMB*	82,0 A	83,0 A	72,0 AB	62,0 BC	54,0 CD	40,0 D
	30 °C	85,0 A	75,0 AB	67,0 BC	58,0 BC	54,0 C	31,0 D
	40 °C	86,0 A	87,0 A	72,0 AB	57,0 B	56,0 B	31,0 C
4 hs	AMB*	86,0 A	78,0 AB	72,0 ABC	59,0 CD	62,0 BCD	45,0 D
	30 °C	89,0 A	76,0 A	75,0 A	54,0 B	54,0 B	40,0 B
	40 °C	89,0 A	80,0 AB	74,0 AB	64,0 BC	55,0 C	37,0 D
5 hs	AMB*	88,0 A	77,0 AB	70,0 BC	62,0 BC	54,0 C	31,0 D
	30 °C	86,0 A	72,0 A	77,0 A	53,0 B	54,0 B	41,0 B
	40 °C	88,0 A	78,0 A	74,0 AB	54,0 C	56,0 BC	33,0 D
6 hs	AMB*	82,0 A	76,0 AB	64,0 B	60,0 BC	44,0 CD	34,0 D
	30 °C	91,0 A	80,0 A	79,0 A	59,0 B	39,0 C	37,0 C
	40 °C	82,0 A	80,0 A	76,0 AB	62,0 BC	51,0 CD	39,0 D
Média	86,72 A	78,27 B	72,61 C	59,88 D	52,55 E	34,88 F	

\*AMB = 25 ± 1 °C

DMS<sub>1</sub> = 17,77

DMS<sub>2</sub> = 4,19

C.V. = 15,37%

<sup>1</sup> Em cada linha, as médias seguidas pelas mesmas letras, não diferiram entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 5A - Resumo da análise de variância para os dados de viabilidade (%), de sementes com linter, avaliados pelo teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína). ESAL, Lavras-MG, 1991.

F.V.	G.L.	Quadrados médios
Amostra (A)	5	4.089,114**
Tempo (T)	5	3.002,605**
A x T	25	282,816**
Temperatura de embebição (T')	1	884,384**
A x T'	5	761,324**
T x T'	5	240,676**
A x T x T'	25	135,967*
Erro	288	78,692
<b>Total</b>	<b>359</b>	

C.V. = 11,09%

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 6A - Resumo da análise de variância para os dados de germinação (%), de sementes com linter, que foram submetidas ao teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína). ESAL, Lavras-MG, 1991.

F.V.	G.L.	Quadrados médios
Amostra (A)	5	21.201,958**
Tempo (T)	5	69,941NS
A x T	25	65,057NS
Temperatura de embebição (T')	1	153,729NS
A x T'	5	64,196NS
T x T'	5	25,513NS
A x T x T'	25	133,520NS
Erro	288	92,020
<b>Total</b>	<b>359</b>	

C.V. = 15,24%

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

NS Estatisticamente não significativo.

QUADRO 7A - Resultados médios (%), do teste de germinação das sementes com linter que foram submetidas ao teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína). ESAL, Lavras-MG, 1991.<sup>1</sup>

Amostras		1	2	3	4	5	6
1 h	AMB*	80,0 A	66,0 AB	71,0 AB	58,0 B	54,0 B	32,0 C
	40 °C	86,0 A	71,0 AB	69,0 AB	64,0 BC	51,0 C	32,0 D
2 hs	AMB*	91,0 A	75,0 AB	67,0 BC	57,0 C	58,0 BC	25,0 D
	40 °C	86,0 A	76,0 A	71,0 AB	58,0 BC	48,0 CD	36,0 D
3 hs	AMB*	88,0 A	73,0 AB	61,0 BC	67,0 B	49,0 C	30,0 D
	40 °C	81,0 A	76,0 AB	73,0 AB	60,0 B	61,0 B	36,0 C
4 hs	AMB*	91,0 A	74,0 AB	63,0 B	58,0 B	63,0 B	29,0 C
	40 °C	88,0 A	76,0 AB	68,0 BC	68,0 BC	57,0 C	26,0 D
5 hs	AMB*	81,0 A	76,0 AB	77,0 AB	56,0 C	61,0 BC	34,0 D
	40 °C	91,0 A	74,0 AB	69,0 BC	67,0 BC	52,0 C	31,0 D
6 hs	AMB*	86,0 A	78,0 AB	69,0 ABC	64,0 BC	55,0 C	27,0 D
	40 °C	86,0 A	69,0 AB	76,0 AB	61,0 B	60,0 B	34,0 C
Média		86,0 A	73,86 B	69,50 B	61,58 C	55,75 D	31,0 E

\*AMB = 25 ± 1 °C

DMS<sub>1</sub> = 17,28

DMS<sub>2</sub> = 4,99

C.V. = 15,24%

<sup>1</sup> Em cada linha, as médias seguidas pelas mesmas letras, não diferiram entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 8A - Valores relativos a diferença mínima significativa (DMS) do teste Tukey a 5% de probabilidade, aplicados nas comparações das médias do teste do pH do exsudato (teste de fenolftaleína). ESAL, Lavras-MG, 1991.

Divisor da média	número de médias comparadas	DMS	
		Semente deslintada	Semente com linter
5	2	-	10,99
5	3	13,32	-
5	6	16,22	15,98
10	6	-	11,30
15	6	9,36	-
30	2	-	4,48
30	3	5,43	-
30	6	6,62	6,52
60	6	-	4,61
90	6	3,82	-
180	2	-	1,83
180	3	2,22	-



