

METODOLOGIA ALTERNATIVA DO TESTE DE ENVELHECIMENTO ACELERADO PARA SEMENTES DE AZEVÉM

ALTERNATIVE METHODOLOGY OF THE ACCELERATED AGING TEST FOR RYEGRASS SEEDS

Rodrigo Ramos LOPES¹

Lúcia Brandão FRANKE²

Fabrcio Silva NUNES³

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo estudar a metodologia do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de azevém, bem como avaliar a eficiência do uso de solução salina para o controle da absorção de água pelas sementes durante a realização do teste. Foram utilizados seis lotes de sementes de azevém. A avaliação inicial desses lotes consistiu na determinação do teor de água e nos testes de germinação e primeira contagem da germinação. Para o teste de envelhecimento acelerado, foram testados os métodos: tradicional (100% UR), com solução salina saturada (76% UR), e com solução salina não saturada (94% UR), durante os períodos de 24, 48 e 72 h. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizando seis lotes e quatro repetições. O teste de envelhecimento acelerado com uso de solução salina é eficiente para avaliação do vigor das sementes de azevém, fornecendo informações semelhantes às obtidas na primeira contagem de germinação e envelhecimento acelerado com água quando conduzido com 40% de NaCl, 41 °C por 24 h.

Palavras-chave: potencial fisiológico; vigor; *Lolium multiflorum*.

ABSTRACT

The present work aimed to study the methodology of accelerated aging test to evaluate ryegrass seeds physiological potential, as well as the efficiency of using salt saturated solution to control water absorption by the seeds during the test. Six ryegrass seed lots were used. The initial evaluation of these seed lots was by determining water content, germination tests and germination first counting. For the accelerated aging test, the traditional method (100% RU), the use of saturated saline solution (76% RU) and non saturated saline solution (94% RU) during 24, 48 and 72 h were employed. The experimental design was completely randomized, with six lots and four repetitions. The accelerated aging test with a saline solution is efficient to evaluate ryegrass seeds vigor, providing information equivalent to that of first germination counting and accelerated aging with water when performed at 40% of NaCl, 41 °C for 24 h.

Key-words: physiological potential; vigor; *Lolium multiflorum*.

1 Eng. Agr., MSc., Doutorando do curso de Pós-graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP: 91540-000, Porto Alegre – RS, Brasil. E-mail: lopezhsf@hotmail.com. Autor para correspondência.

2 Eng.ª Agr.ª, Dr.ª, Prof.ª do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da Faculdade de Agronomia/Universidade Federal do Rio Grande Sul, Cx. Postal 15100, 91501-970, Porto Alegre - RS, Brasil. E-mail: lbfranke@ufrgs.br

3 Acadêmico do curso de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande Sul, Porto Alegre - RS, Brasil. Bolsista do CNPq. E-mail: fasinunes@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

O teste de envelhecimento acelerado tem sido um dos testes de vigor mais utilizados devido a sua aplicabilidade para sementes de diversas culturas (McDonald, 1995). Embora o teste de envelhecimento acelerado já tenha sido amplamente desenvolvido em relação à padronização, para várias espécies, ainda há estudos em andamento com o objetivo de aprimorar sua metodologia (Marcos Filho, 1999).

Fundamentando-se no princípio de que sementes de alto vigor manterão sua viabilidade quando submetidas, durante curtos períodos de tempo, a condições severas de temperatura e umidade relativa em uma câmara apropriada, enquanto que as de baixo vigor terão sua viabilidade reduzida (AOSA, 1983). Desta forma, são consideradas mais vigorosas as sementes que se deterioram mais lentamente após serem submetidas ao envelhecimento acelerado e que, portanto, podem tolerar estresse mais acentuado e suportar melhor as condições adversas em campo e armazenamento.

Entretanto, para a maioria das espécies com sementes pequenas, o envelhecimento acelerado pode apresentar certas limitações. Para contornar este problema, foi sugerida a exposição das sementes a soluções saturadas de sais durante a realização do teste, as quais reduzem a umidade relativa do ambiente no interior dos compartimentos individuais (NaCl – 76% UR, KCl – 87% UR ou NaBr – 55% UR), limitando a absorção de água pelas sementes. Este método, proposto por Jianhua & McDonald (1996) é denominado teste de envelhecimento acelerado com uso de soluções saturadas de sal.

No teste de envelhecimento acelerado, as diferenças na velocidade e uniformidade de absorção de água pelas sementes, expostas à atmosfera úmida, podem originar variações acentuadas no grau de umidade (Jianhua & McDonald, 1996). Em espécies com sementes pequenas, têm se verificado resultados pouco consistentes devido à variação acentuada do grau de umidade das sementes nas amostras avaliadas, após o período de envelhecimento.

Embora o uso de soluções salinas no envelhecimento acelerado venha sendo estudado visando a sua padronização para muitas espécies, limita a absorção de água e a semente atinge baixos níveis de umidade (8 a 12%) após o período de envelhecimento, causando reduzido estresse. Portanto, a semente deve absorver água até atingir graus de umidade que permitem estresse suficiente, capaz de possibilitar a identificação de diferenças entre lotes com porcentagens de germinação similares (Ávila et al., 2006). Para tanto, é necessário estabelecer uma concentração salina mais conveniente que permita a separação dos lotes de sementes em níveis de vigor.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo estudar a metodologia do teste de

envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de azevém, estabelecendo comparação entre a utilização de água e de solução de cloreto de sódio.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes, no Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia, da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Foram utilizados seis lotes de sementes de azevém (*Lolium multiflorum* L.), variedade comum, provenientes de diferentes municípios do Rio Grande do Sul (Bagé, Santa Maria, Júlio de Castilhos, Barra do Quaraí, Pejuçara e Uruguaiana).

O grau de umidade de cada amostra foi determinado em duas repetições de 5 g para todos os lotes, utilizando-se estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h, sendo calculada por diferença de massa, com base na massa úmida das sementes, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

Teste padrão de germinação para cada lote testado utilizou-se 400 sementes em quatro repetições, semeadas em caixas plásticas (11 x 11 x 3,5 cm). As sementes foram submetidas à germinação por 14 dias em germinador, na temperatura constante de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais obtidas no décimo quarto dia (Brasil, 1992); Utilizou-se os dados obtidos na **primeira contagem de germinação** – realizada simultaneamente ao teste de germinação, considerando-se a porcentagem de plântulas normais obtidas no quinto dia após a semeadura.

O teste de **envelhecimento acelerado (método com água)** – adotou-se a metodologia recomendada por Garcia & Menezes (1999). Uma única camada de sementes foi colocada sobre tela metálica acoplada à caixa plástica (11 x 11 x 3,5 cm), contendo 40 dm^3 de água no fundo. As caixas foram tampadas, de modo a manter 100% UR em seu interior, sendo mantidas em incubadora BOD a $41\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 48 h. Decorrido o período, duas subamostras de 100 sementes foram colocadas para germinar, seguindo método descrito para o teste padrão de germinação. Uma única avaliação foi realizada no décimo quarto dia após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais.

Envelhecimento acelerado com o uso de solução salina saturada (primeira etapa) - utilizou-se metodologia semelhante a descrita para o método tradicional, porém, substituindo-se a água no interior das caixas plásticas por 40 dm^3 de solução saturada de NaCl (40 g de NaCl em 100 dm^3 de água), obtendo-se assim ambiente com 76% de UR, conforme descrito por Jianhua & McDonald (1996). As caixas plásticas foram mantidas em câmara do tipo BOD a $41\text{ }^{\circ}\text{C}$, por períodos de 24, 48 e 72 h. Em seguida, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, sendo avaliadas após 14

dias e os resultados expressos em percentagem de plântulas normais.

Envelhecimento acelerado com uso de solução não saturada de sal (segunda etapa) - utilizando metodologia similar ao envelhecimento acelerado com solução salina, com exceção para concentração da solução (11 g de NaCl em 100 dm³ de água), estabelecendo um ambiente com umidade relativa de 94%, adaptado da metodologia descrita por Jianhua & McDonald (1996) e determinado conforme a equação de Van't Hoff descrita por Salisbury & Ross (1992). As caixas plásticas (11 x 11 x 3,5 cm) foram mantidas em câmara do tipo BOD a 41 °C, por períodos de 24, 48 e 72 h. Em seguida, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, sendo avaliadas após 14 dias e os resultados expressos em percentagem de plântulas normais.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizando seis lotes e quatro repetições. Cada procedimento (combinação de solução colocada no fundo das caixas plásticas e de período de exposição) para o teste de envelhecimento acelerado foi analisado separadamente, sendo os lotes considerados tratamentos.

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade e de homogeneidade de variância, que não indicaram a necessidade de transformação. Em seguida, foram submetidos à análise de variância,

sendo a comparação entre a qualidade fisiológica das sementes dos diferentes lotes efetuada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, se observa que o grau de umidade inicial das sementes avaliadas e o grau de umidade atingido após a realização do teste de envelhecimento acelerado tradicional e com o uso de solução saturada de NaCl. Os resultados demonstraram que o uso de solução saturada de NaCl promoveu a redução da velocidade de absorção de água pelas sementes de azevém durante o período de envelhecimento, de modo que ao final dos períodos estudados as sementes atingiram graus de umidade inferiores aos verificados com o uso da metodologia com o uso de água; neste caso houve variações mais acentuadas no grau de umidade das sementes ao final do envelhecimento acelerado, confirmando as observações de Jianhua & McDonald (1996). Desta maneira, as condições de envelhecimento com o uso de solução de sal promoveram efeitos menos drásticos, pois ao atingir menores teores de água, o grau de deterioração das sementes foi atenuado em relação ao normalmente verificado com o uso do método tradicional. Resultado semelhante foi obtido em trabalho com sementes de rúcula por Ramos et al. (2004).

TABELA 1 – Teor de água (dag kg⁻¹) em sementes de azevém de diferentes procedências em função dos tratamentos aplicados (envelhecimento acelerado com água; envelhecimento acelerado com solução salina). Porto Alegre, 2008.

Lotes	Inicial	Após EA (água; 41 °C; 48 h)	Após EA (40% NaCl; 41 °C)		
			24 h	48 h	72 h
Bagé	12,76	a 25,27	a 12,46	a 13,11	a 13,50
Santa Maria	12,48	a 25,90	a 12,77	a 13,15	a 13,22
Júlio de Castilhos	12,47	a 25,38	a 12,72	a 13,30	a 13,01
Barra do Quaraí	12,49	a 25,39	a 12,50	a 12,73	a 13,14
Pejuçara	12,57	a 25,43	a 12,60	a 13,17	a 13,70
Uruguaiana	12,79	a 25,96	a 12,84	a 13,17	a 12,95
C.V.(%)	1,1	0,9	1,5	1,5	1,7
Lotes	Inicial	Após EA (água; 41 °C; 48 h)	Após EA (11% NaCl; 41 °C)		
			24 h	48 h	72 h
Bagé	12,76	a 25,27	a 12,69	a 13,21	a 14,77
Santa Maria	12,48	a 25,90	a 12,79	a 12,44	a 14,82
Júlio de Castilhos	12,47	a 25,38	a 12,91	a 12,98	a 15,26
Barra do Quaraí	12,49	a 25,39	a 12,20	a 13,41	a 14,04
Pejuçara	12,57	a 25,43	a 12,20	a 12,84	a 14,60
Uruguaiana	12,79	a 25,96	a 12,61	a 12,52	a 14,82
C.V.(%)	1,1	0,9	2,7	3,2	2,1

Os valores seguidos pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P< 0,05).

Outro aspecto a ser considerado é que, após o envelhecimento das sementes, em ambos os métodos estudados, foram observadas diferenças no desenvolvimento de fungos. No entanto, no teste de envelhecimento com adição de solução de NaCl, praticamente não houve presença de microrganismos. Observação semelhante foi efetuada por Rodo et al., (2000) e Panobianco & Marcos Filho (2001), pois a baixa umidade relativa

no teste de envelhecimento acelerado com adição de solução saturada de sal diminuiu consideravelmente o desenvolvimento de fungos. Provavelmente, ao utilizar-se sal na solução são liberados para o meio, íons de cloro e sódio. Os íons de cloro liberados possuem ação antifúngica fato esse que pode ter contribuído para o controle da proliferação de fungos Ávila et al. (2006).

Na Tabela 2, encontram-se os resultados do teste padrão de germinação e primeira contagem de germinação. Pela análise dos resultados do teste padrão de germinação, verifica-se que apenas o lote proveniente do município de Bagé foi significativamente superior aos demais. Por outro lado, a primeira contagem de germinação permitiu observar diferenças significativas entre os lotes,

classificando-os em diferentes níveis de qualidade fisiológica. Pela análise dos resultados deste teste, observa-se que os lotes provenientes dos municípios de Júlio de Castilhos, Barra do Quaraí e Pejuçara foram classificados como semelhantes, seguido pelo lote de Uruguaiana, que apresentou resultados de qualidade inferior aos demais.

TABELA 2 – Teste padrão de germinação e primeira contagem de germinação em sementes de azevém de diferentes procedências. Porto Alegre, 2008.

Lotes	Germinação (%)	Primeira Contagem (%)
Bagé	99 a	94 a
Santa Maria	83 b	76 b
Júlio de Castilhos	63 c	39 c
Barra do Quaraí	51 d	38 c
Pejuçara	42 e	34 c
Uruguaiana	35 f	24 d
C.V.(%)	5,2	5,5

Os valores seguidos pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P< 0,05).

A primeira contagem do teste de germinação, que representa a velocidade de germinação das sementes e, conseqüentemente, o vigor, é um teste que permite a estratificação dos lotes através de diferenças no potencial fisiológico (Franzin et al., 2004). Os resultados do teste de envelhecimento acelerado tradicional conduzidos durante o período de 48 h e à temperatura de 41 °C

(Garcia & Menezes, 1999), apresentaram similaridade de resultados com a primeira contagem do teste de germinação (Tabelas 2 e 3). Portanto, na etapa inicial desta pesquisa, verificou-se que a eficiência para distinguir os lotes de alto e baixo vigor foi mais destacada nos testes de primeira contagem e envelhecimento acelerado tradicional.

TABELA 3 – Valores médios (%) obtidos no teste de envelhecimento acelerado (água; 41 °C; 48 h) e envelhecimento acelerado com solução salina (40% e 11% de NaCl) em sementes de azevém de diferentes procedências. Porto Alegre, 2008.

Lotes	EA (água; 41 °C; 48 h)		EA (40% NaCl; 41 °C)					
			24 h		48 h	72 h		
Bagé	A	96 a	A	96 a	A	99 a	A	97 a
Santa Maria	A	75 b	A	75 b	A	82 a	A	87 ab
Júlio de Castilhos	A	42 c	A	42 c	A	48 bc	A	47 cd
Barra do Quaraí	A	50 c	A	50 c	A	62 b	A	66 bc
Pejuçara	A	42 c	A	42 c	A	36 c	A	36 d
Uruguaiana	B	35 c	AB	35 c	B	34 c	A	52 cd
C.V.(%)		7,2		5,1		7,4		8,8
Lotes	EA (água; 41 °C; 48 h)		EA (11% NaCl; 41 °C)					
			24 h		48 h	72 h		
Bagé	A	96 a	A	99 a	A	97 a	A	96 a
Santa Maria	A	75 b	A	79 b	A	74 ab	A	67 b
Júlio de Castilhos	A	42 c	A	45 c	A	39 c	A	40 cd
Barra do Quaraí	A	50 c	A	63 bc	A	55 bc	A	52 bc
Pejuçara	A	42 c	A	42 c	A	32 c	A	26 d
Uruguaiana	AB	35 c	AB	34 c	A	42 c	B	26 d
C.V.(%)		7,2		5,5		10,7		9,7

Os valores antecedidos pela mesma letra maiúscula na linha, e seguidos pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P< 0,05).

Examinando-se os resultados do teste de envelhecimento acelerado (Tabela 3), verificou-se que o período de 24 h a 41 °C, com uso de solução saturada de 40% de NaCl classificou os lotes de forma similar à classificação do teste de germinação, além de apresentar coerência com os resultados da primeira contagem da germinação e envelhecimento acelerado tradicional, revelando o lote proveniente do município de Bagé e Santa Maria

como de vigor superior e o lote de Uruguaiana como inferior. Esse período de envelhecimento se destaca ainda por apresentar as vantagens de possibilitar respostas mais rápidas sobre o potencial fisiológico dos lotes e economia de energia elétrica pelo menor período de utilização do equipamento.

A modificação da metodologia proposta por Jianhua & McDonald (1996) com a utilização de concentrações menores de NaCl (11 g de NaCl em

100 dm³ de água) e a elevação da umidade relativa da atmosfera para 94% proporcionou condições para que o teor de água das sementes, após o período de envelhecimento, fosse, no máximo, 15,26% (Tabela 1). Este resultado assegura ainda as vantagens já verificadas com a utilização de solução saturada de sal, tais como, teor de água mais uniforme entre amostras e o controle de microrganismos durante a condução do teste.

Os resultados referentes ao teste de envelhecimento acelerado com utilização de solução não saturada de NaCl encontram-se na Tabela 3 e permitem verificar que os períodos de exposição ao envelhecimento não foram eficientes na separação dos lotes em níveis de vigor. Os resultados encontrados não foram similares aos resultados da primeira contagem de germinação e do envelhecimento acelerado tradicional, havendo concordância apenas para os lotes provenientes do município de Bagé e Santa Maria no período de exposição de 24 h (EA 11% NaCl; 41 °C; 24 h). De modo geral, segundo Marcos Filho (1999), como é

verificado para outros testes, é difícil a identificação de diferenças entre lotes de vigor intermediário, fato também constatado nesse trabalho.

O emprego de solução não saturada de NaCl assegurou umidade relativa de 94% no interior das caixas plásticas, o que limitou, parcialmente, a absorção de água pelas sementes. Todavia, apesar da umidade relativa ser elevada, não houve desenvolvimento de fungos, sendo esta mais uma vantagem dessa metodologia.

Observando os resultados da análise de correlação (Tabela 4), verifica-se alta correlação (P<0,01) entre a primeira contagem de germinação e o envelhecimento acelerado tradicional, assim como entre as metodologias alternativas (envelhecimento acelerado com o uso de solução saturada e não saturada de NaCl por 24 h), ambas altamente significativas, as quais evidenciaram a importância destas metodologias para a determinação do potencial fisiológico de sementes de azevém.

TABELA 4 – Correlações simples entre as variáveis: Primeira contagem de germinação (1ª Cont.), Envelhecimento acelerado com água (EA), Envelhecimento acelerado com solução salina (EA 24 h.40%; EA 48 h.40% e EA 72 h.40%) e Envelhecimento acelerado com solução salina não saturada (EA 24 h.11%; EA 48 h.11% e EA 72 h.11%) em sementes de azevém de diferentes procedências. Porto Alegre, 2008.

Testes	1ª Cont.	EA	EA 24 h.40%	EA 48 h.40%	EA 72 h.40%	EA 24 h.11%	EA 48 h.11%	EA 72 h.11%
1ª Cont.	1							
EA Trad.	0,98**	1						
EA 24 h.40%	0,97**	0,96**	1					
EA 48 h.40%	0,95**	0,95**	0,98**	1				
EA 72 h.40%	0,89**	0,90**	0,94**	0,95**	1			
EA 24 h.11%	0,96**	0,97**	0,97**	0,98**	0,92**	1		
EA 48 h.11%	0,93**	0,94**	0,95**	0,92**	0,92**	0,93**	1	
EA 72 h.11%	0,94**	0,94**	0,98**	0,96**	0,90**	0,97**	0,94**	1

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste t (P<0,01).

CONCLUSÕES

O teste de envelhecimento acelerado com uso de solução salina é eficiente para avaliação do vigor das sementes de azevém, fornecendo

informações semelhantes às obtidas na primeira contagem de germinação e envelhecimento acelerado com água quando conduzido com 40% de NaCl, 41 °C por 24 h.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS (AOSA). **Seed vigor testing handbook**. East Lansing, 1983. 88 p. (Contribution, 32).
- ÁVILA, P. F. V.; VILLELA, F. A.; ÁVILA, M. S. V. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico em sementes de rabanete. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p. 52-58, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- FRANZIN, S. M. et al. Avaliação do vigor de sementes de alface nuas e peletizadas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 2, p. 114-118, 2004.
- GARCIA, D. C.; MENEZES, N. L. Teste de envelhecimento precoce para sementes de azevém, aveia preta e milho. **Ciência Rural**, v. 29, n. 2, p. 233-237, 1999.
- JIANHUA, Z.; McDONALD, M. B. The saturated salt accelerated aging test for small seeded crops. **Seed Science and Technology**, v. 25, n. 1, p. 123-131, 1996.
- MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 1, p. 1.1-1.21.
- McDONALD, M. B. Standardization of seed vigour tests. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION, 24., 1995, Copenhagen. **Proceedings...** Zürich: ISTA, 1995. p. 88-97.

9. PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 3, p. 525-531, 2001.
10. RAMOS, P. N. et al. Envelhecimento acelerado em sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 1, p. 98-103, 2004.
11. RODO, A. B.; PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 2, p. 289-292, 2000.
12. SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. 4. ed. Belmont: Wadsworth, 1992. 682 p.

Recebido em 18/07/2008

Aceito em 17/11/2008