

## Teste de respiração em sementes de soja para avaliação da qualidade fisiológica

### Respiration test soybean seed as related of physiological quality

Juliana de Souza Dode<sup>1</sup> Geri Eduardo Meneghello\* Fabiana Carrett Timm<sup>II</sup> Dario Munt de Moraes<sup>II</sup>  
Silmar Teichert Peske<sup>I</sup>

#### RESUMO

Com a constante evolução tecnológica, a indústria sementeira exige cada vez mais rapidez na identificação da qualidade fisiológica das sementes. Nesse sentido, o trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência e rapidez do método de Pettenkofer na determinação da atividade respiratória para diferenciar o vigor de cinco lotes de sementes de soja cv. 'Taura'. Além da determinação da atividade respiratória, foram realizados testes de germinação em areia, condutividade elétrica, comprimento de parte aérea e raiz, massa seca da parte aérea, das raízes e massa seca total. Os resultados dos testes de qualidade fisiológica e da atividade respiratória das sementes permitiram a classificação dos lotes em diferentes níveis de qualidade fisiológica, sendo que a determinação da atividade respiratória, pelo método de Pettenkofer, é eficiente, rápida e útil como alternativa na diferenciação do vigor de lotes de sementes de soja.

**Palavras-chave:** *Glycine max* L., respiração, viabilidade e vigor.

#### ABSTRACT

The seed industry with the constant technological developments increasingly requires quick identification of seed quality. Therefore, this study aimed to evaluate the efficiency and speed of the Pettenkofer method for the breathing activity determination in order to distinguish the effect of the vitality of seeds. Five seed lots of soybean cv. 'Taura' were used. Besides the determination of the breathing activity, the following benchmark tests were performed: moisture content, germination, electrical conductivity, shoot length, root and total dry mass. The results of benchmark tests and breathing activity of seeds allowed the classification of the lots at different

levels of vitality. The determination of breathing activity by the Pettenkofer method is efficient, fast and useful as an alternative test to distinguish soybean seed lots.

**Key words:** *Glycine max* L., respiration, viability and vigor.

#### INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem-se constatado desempenho crescente em termos de produtividade e produção de soja no Brasil, de forma que o controle de qualidade de suas sementes é de fundamental importância dentro do cenário de evolução tecnológica constante, impulsionada pela competitividade do mercado. Os testes de vigor têm se constituído em ferramentas de uso cada vez mais rotineiro pela indústria de semente na determinação do potencial fisiológico (BARROS & MARCOS FILHO, 1997), uma vez que a avaliação rápida e precisa da qualidade delas viabiliza a eliminação de lotes de sementes de baixa qualidade.

Os testes precisos e de execução em curto espaço de tempo contribuem para diminuir custos, prevenir prejuízos, para melhor aproveitamento da mão-de-obra envolvida no trabalho de controle de qualidade (AMARAL & PESKE, 1984) e para a constituição de um eficiente controle interno de qualidade (MUNIZ et al., 2004). Para isso, é fundamental que sejam de execução fácil e rápida, além de serem de baixo custo e

<sup>1</sup>Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), 96010-900, Capão do Leão, RS, Brasil. E-mail: geriem@ufpel.edu.br. \*Autor para correspondência.

<sup>II</sup>Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, UFPel, Capão do Leão, RS, Brasil.

alta correlação com os testes utilizados como análise de rotina em laboratório (FERNANDES et al., 1987).

Diversos testes vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de determinar a qualidade de sementes, seja pela estimativa do vigor, capacidade germinativa ou pelo percentual de danos mecânicos com o máximo de precisão e rapidez. Dentre eles, estão os testes classificados como rápidos, que são os de tetrazólio, condutividade elétrica, pH do exsudato (fenolftaleína), verde rápido, tintura de iodo, entre outros.

O emprego de testes de vigor rápidos, objetivos e econômicos torna-se uma ferramenta imprescindível para a avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes em um programa organizado de produção. Dentre os vários procedimentos utilizados na determinação do vigor, uma das alternativas seria submeter as sementes à medição da atividade respiratória em condição de laboratório, pois a respiração é a oxidação completa de compostos de carbono a  $\text{CO}_2$  e água, através de uma série de reações, usando oxigênio comoceptor final de elétrons, sendo a energia liberada e conservada na forma de ATP (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Resultados promissores com essa técnica foram obtidos por MENDES et al. (2009), que determinaram a atividade respiratória de sementes de soja e arroz usando o aparelho de Pettenkofer e, com isso, diferenciaram lotes com diferentes níveis de vigor. Diante do exposto, objetivou-se determinar a atividade respiratória de sementes de soja e correlacionar a compatibilidade dos seus resultados com outros testes na avaliação da qualidade fisiológica de sementes.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido utilizando-se sementes de soja da cultivar 'Taura'. Um lote com alta qualidade fisiológica foi selecionado e submetido a condições adversas de temperatura e umidade para obtenção de diferentes níveis de vigor, cujas condições adversas foram temperatura de  $42^\circ\text{C}$  e umidade relativa de 100%, por períodos de seis a 96 horas. Após a obtenção dos distintos níveis de vigor, cada tratamento foi dividido em quatro porções, que constituiram as repetições e, na sequência, os lotes foram secos para uniformizar a umidade das sementes.

Com o objetivo de caracterizar a qualidade fisiológica dos lotes e determinar a atividade respiratória, relacionando-a com outros testes de vigor, os lotes foram submetidos aos seguintes testes: germinação em areia, condutividade elétrica, comprimento da parte aérea e da raiz, massa seca da

parte aérea, das raízes e massa seca total das plântulas. Os testes de viabilidade, vigor e atividade respiratória das sementes foram conduzidos em cada lote, conforme descritos a seguir.

Germinação em areia (G) - foram utilizadas quatro subamostras de 50 sementes de soja por lote, totalizando 200 sementes, que foram semeadas em bandejas, previamente preenchidas com areia esterilizada em autoclave, a cinco centímetros de profundidade. O teste foi realizado em sala climatizada a  $25^\circ\text{C}$ , sendo a contagem das plântulas emergidas realizada aos 21 dias após a semeadura.

Condutividade elétrica (CE) - os testes foram conduzidos com quatro repetições de 50 sementes da fração semente pura, totalizando 200 sementes por lote de soja, cujas amostras foram pesadas em balança de precisão e, em seguida, as sementes foram colocadas para embeber em copos plásticos, contendo 75mL de água deionizada, agitadas levemente para que todas fossem completamente submersas e depois mantidas em germinador à temperatura de  $25^\circ\text{C}$ . Após três e 24 horas de embebição, foram realizadas as leituras da CE em condutímetro, modelo Digimed CD-21, e os resultados expressos em  $\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$  de semente em função da massa inicial das sementes utilizadas (AOSA, 1983).

Comprimento da parte aérea (CPA) das plântulas - avaliou-se o comprimento médio da parte aérea das plântulas normais obtidas a partir da semeadura de quatro repetições de 10 sementes no terço superior de folhas de papel toalha (germitest), umedecidas previamente com água destilada na quantidade equivalente a 2,5 vezes a sua massa seca, sendo as sementes posicionadas com a micropila voltada para a parte inferior do papel. Os rolos de papel contendo as sementes permaneceram em câmara de germinação por sete dias, em germinador regulado a  $25^\circ\text{C}$  na presença de luz contínua, quando então se avaliou o comprimento das plântulas com o auxílio de uma régua milimetrada. Para obtenção do comprimento da parte aérea, dividiu-se o valor total do comprimento das plântulas analisadas pelo número de plântulas avaliadas e os resultados foram expressos em  $\text{mm plântula}^{-1}$ , conforme descrito por NAKAGAWA (1999).

Massa seca total (MST) - as mesmas 10 plântulas coletadas de cada repetição foram cortadas com estilete, separando-se a parte aérea da raiz na região do colo, colocando-as separadas uma da outra, em estufa de ventilação forçada a  $70\pm 2^\circ\text{C}$  até massa constante, aferindo-se por gravimetria e os resultados expressos em  $\text{mg plântula}^{-1}$ , seguindo metodologia proposta por NAKAGAWA (1999).

Atividade respiratória (AR) - a liberação de CO<sub>2</sub> pelas sementes foi medida com aparelho de Pettenkofer, o qual é constituído por quatro frascos lavadores de gases, sendo que dois contêm hidróxido de sódio (NaOH) a 25%, que tem por finalidade reter o CO<sub>2</sub> do ar ambiente; um frasco destinado para armazenamento das sementes em estudo, isento de CO<sub>2</sub> do ar ambiente; e um outro contendo hidróxido de bário Ba(OH)<sub>2</sub> a 25%, o qual reage com o CO<sub>2</sub> proveniente da atividade respiratória das sementes, resultando em carbonato de bário (BaCO<sub>3</sub>). Os frascos são interligados por uma mangueira de silicone acoplada a uma trompa aspiradora de ar, cujo fluxo é regulado por uma torneira, permitindo o controle de sua velocidade por meio da observação de bolhas formadas nos frascos.

As sementes dos diferentes lotes (100g de cada lote) foram colocadas no frasco de armazenamento por 60 minutos, à temperatura de 25°C; após o período de permanência no aparelho foram coletadas cinco alíquotas de 10mL da solução de BaCO<sub>3</sub> em Erlenmeyer, quando, cada amostra, após receber duas gotas do reagente fenolftaleína, foi submetida à titulação com ácido clorídrico (HCl) 0,1N em bureta de 50mL. No ponto de viragem, ou seja, de mudança de coloração da solução, foi registrado o volume de HCl gasto em cada alíquota, o qual está diretamente relacionado com a quantidade de CO<sub>2</sub> fixado pela solução de Ba(OH)<sub>2</sub> e é utilizado no cálculo da atividade respiratória das sementes, sendo o CO<sub>2</sub> fixado proveniente do processo de respiração. No entanto, deve ser ressaltado que a quantidade calculada refere-se ao conteúdo de CO<sub>2</sub> presente na alíquota titulada.

A metodologia para a medição da atividade respiratória de sementes foi descrita por MENDES et al. (2009), com modificações, cujo cálculo da atividade respiratória foi realizado com base na seguinte equação:  $N \times D \times 22$  (MÜLLER, 1964), em que: N = normalidade do ácido usado (HCl 0,1N); D = diferença entre o volume de HCl gasto na titulação da prova em branco e o volume de HCl gasto na titulação da amostra; 22 = normalidade do CO<sub>2</sub>. O resultado foi expresso em quantidade de dióxido de carbono liberado por grama de semente por hora ( $\mu\text{g CO}_2 \text{ g semente}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em quatro repetições, e os dados relativos às variáveis mensuradas foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o software SASM-Agri (CANTERI et al., 2001). Para fins de análise estatística, os dados obtidos no teste de germinação em areia foram transformados em  $\arcsen \sqrt{x/100}$ , constando no trabalho os valores originais; também foi efetuada correlação simples entre os testes de vigor e a respiração das sementes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de água das sementes dos cinco lotes foram semelhantes ( $12 \pm 0,5\%$ ), o que é um aspecto importante sobre os testes, uma vez que a uniformização do teor de água das sementes dos diferentes lotes é fundamental para a padronização das avaliações e obtenção de resultados consistentes (LOEFFLER et al., 1988; VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999). A velocidade de germinação pode ser utilizada para identificar sementes de cultivares com emergência de plântulas mais rápida em campo ou em estufa, minimizando assim as condições adversas que ocorrem durante a germinação e estabelecimento das plântulas (STEINER et al., 2009).

Pelos resultados dos testes de germinação em areia e condutividade elétrica (Tabela 1), identificaram-se os lotes quatro e cinco como os de menor qualidade fisiológica, diferindo estatisticamente dos demais, estando estes abaixo do padrão mínimo para comercialização (BRASIL, 2005).

Os resultados do comprimento da parte aérea (Tabela 1) permitiram classificar os lotes de melhor (1 e 2) e de pior desempenho (5), sendo, portanto, idênticos aos obtidos no teste de germinação em areia. Este teste é reconhecidamente eficiente na distinção de diferentes níveis de vigor, pois, de modo semelhante, VANZOLINI et al. (2007) verificaram que, em sementes de soja, o teste de comprimento da plântula ou parte delas foi sensível para separação de lotes em níveis de vigor em relação ao teste de germinação.

A massa seca das plântulas (Tabela 1) diminuiu expressivamente com a redução da germinação das sementes dos diferentes lotes, novamente classificando o lote 1 como de maior vigor, demonstrando relação direta do vigor de sementes versus desenvolvimento inicial das plântulas. Os resultados concordam com NAKAGAWA (1999), quando afirmou que plântulas com comprimento, massa fresca e secas maiores que de outras, para uma mesma espécie, indicam boa qualidade fisiológica das sementes que as originaram e são consideradas mais vigorosas.

De maneira geral, os resultados dos testes de vigor e de germinação em areia indicaram que a qualidade fisiológica das sementes dos diferentes lotes foi decrescente, do lote 1 para o 2 e assim por diante até o lote 5, de qualidade inferior. Por outro lado, nos valores da respiração houve aumento gradativo com a diminuição do vigor e da germinação das sementes dos lotes (Tabela 1). A primeira atividade metabólica das sementes, concomitante à reidratação, é a respiração (BEWLEY & BLACK, 1994), que é influenciada por diversos fatores, dentre eles, a permeabilidade das membranas (POPINIGIS, 1985).

Tabela 1 - Germinação em areia (G), condutividade elétrica (CE), comprimento da parte aérea (CPA), massa seca total (MST) e atividade respiratória (AR) de cinco lotes de sementes de soja.

| Lotes  | G (%) | -----CE ( $\mu\text{S m}^{-1} \text{g}^{-1}$ )----- |       | CPA (mm plântula <sup>-1</sup> ) | MST (mg plântula <sup>-1</sup> ) | AR ( $\mu\text{g CO}_2 \text{g semente h}^{-1}$ ) |
|--------|-------|---|-------|----------------------------------|----------------------------------|---|
|        |       | 3h  | 24h   |                                  |                                  |   |
| 1      | 98a*  | 45c   | 594d  | 48a                              | 1,20a                            | 0,4c  |
| 2      | 96 a  | 47c   | 656cd | 42a                              | 1,00b                            | 1,4c  |
| 3      | 82b   | 48c   | 737bc | 32b                              | 0,60c                            | 4,6b  |
| 4      | 58c   | 71b   | 789ab | 21c                              | 0,10d                            | 6,4ab   |
| 5      | 46d   | 94a   | 847a  | 11d                              | 0,07d                            | 7,8a  |
| CV (%) | 2,54  | 9,59  | 6,07  | 14,13                            | 14,61                            | 18,13   |

\*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O envelhecimento artificial das sementes diminui o seu vigor, o que resulta em sementes de menor qualidade fisiológica, no entanto, a deterioração ocorre de forma gradativa, manifestando nas sementes uma sequência de eventos de origem bioquímica ou fisiológica, tais como danificação aos sistemas de permeabilidade das membranas.

A desorganização das membranas e a consequente perda de permeabilidade estão entre os primeiros eventos do processo deteriorativo das sementes e tem forte relação com a taxa respiratória, mudanças na atividade enzimática, redução de tecidos de reserva, queda na velocidade e na capacidade de germinação e diminuição no crescimento de plântulas normais (DELOUCHE & BASKIN, 1973). Portanto, o aumento gradativo da deterioração das sementes de soja, diminuiu o vigor, aumentando a atividade respiratória, mostrando relação direta entre esses dois fatores, o que também foi comprovado por BOPPER & KRUSE (2010).

A atividade respiratória das sementes dos diferentes lotes foi maior quanto menor o vigor, concordando com os resultados dos testes de germinação em areia, condutividade elétrica, comprimento de parte aérea e massa seca total. MENDES et al. (2009), avaliando a atividade respiratória de sementes de soja cultivar A 8000, como método alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes, evidenciaram relação com testes de germinação, primeira contagem da germinação, condutividade elétrica, massa seca, comprimento da parte aérea e raiz.

Diversos testes de vigor têm sido idealizados, procurando avaliar e correlacionar com precisão o comportamento de lotes de sementes em laboratório e no campo, como o teste de frio para milho (CÍCERO & VIEIRA, 1994), o de envelhecimento

acelerado para soja (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999) e o de condutividade elétrica para ervilha (CALIARI & MARCOS FILHO, 1990).

Um teste de vigor é considerado eficiente quando há uma correlação com o teste de emergência em campo, por ser o melhor indicativo para inferir sobre o vigor de lotes de sementes (MARCOS FILHO, 1999), pois, na sua execução, devem ser utilizadas condições que simulem aquelas que as sementes estarão sujeitas por ocasião da semeadura em campo (SILVEIRA et al., 2002).

A atividade respiratória se correlacionou com todos os testes, ou seja, a respiração foi inversamente proporcional ao teste de germinação, comprimento da parte aérea e massa seca, mas diretamente proporcional ao teste de condutividade. Nas sementes de menor vigor, há desorganização de membranas e, com isso, ocorre maior lixiviação, gerando acentuada atividade respiratória.

A correlação entre a atividade respiratória e o teste de condutividade elétrica foi positiva, de forma que, quanto maior a perda de exsudatos, maior a taxa respiratória. ANDRADE et al. (1995) e LIMA (1993) obtiveram resultados semelhantes trabalhando com diferentes lotes de sementes de cenoura e cebola, respectivamente. A redução na germinação e no vigor se correlacionou linear e positivamente com o aumento da atividade respiratória e, linear e negativamente, com os demais testes realizados (Tabela 2), sugerindo que esse teste é eficiente para detectar diferenças na qualidade fisiológica de lotes de sementes de soja.

A condutividade elétrica nos dois períodos testados se associou com o aumento da respiração, cuja maior lixiviação de solutos, provavelmente, foi consequência da desorganização das membranas das células das sementes dos lotes de menor vigor, servindo como indicativo de maior atividade metabólica, portanto elevando a atividade respiratória.

Tabela 2 - Coeficiente de correlação entre as variáveis dos testes de avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja.

| Testes | R       |
|--------|---------|
| G      | -0,93** |
| CPA    | -0,91** |
| MST    | -0,93** |
| C 3H   | 0,84**  |
| C 24H  | 0,84**  |

G = germinação em areia; CPA = comprimento da parte aérea; MFT = matéria fresca total; MST = matéria seca total; C 3H = condutividade elétrica 3 horas; C 24H = condutividade elétrica 24 horas; <sup>ns</sup> não significativo, \*\*significativo a 1% de probabilidade, \*significativo a 5% pelo teste t.

## CONCLUSÃO

Nos lotes de sementes de soja, cv. 'Taura', de baixo vigor, há maior atividade respiratória, o que permite classificá-los em diferentes níveis de qualidade, demonstrando que o método de Pettenkofer é eficiente, mais rápido que os testes tradicionais e de baixo custo.

## REFERÊNCIAS

- 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, v.6, n.3, p.85-92, 1984. Disponível em: <<http://www.abrates.org.br/revista/artigos/1984/v6n3/artigo09.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2010.
- ANDRADE, R.N. et al. Correlação entre testes de vigor em sementes de cenoura armazenadas por diferentes períodos. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v.1, n.2, p.153-162, 1995. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_nlinks&ref=15802362&pid=S0100-204X19990006000200001&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=15802362&pid=S0100-204X19990006000200001&lng=en)>. Acesso em: 15 dez. 2010.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSIS (AOSA). **Seed vigour handbook**. The handbook of seed testing. East Lansing, 1983. 88p.
- BARROS, A.S.R.; MARCOS FILHO, J. Testes para avaliação rápida do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.19, n.2, p.288-294, 1997. Disponível em: <<http://www.abrates.org.br/revista/artigos/1997/v19n2/artigo24.pdf>>. Acesso em: 2 nov. 2010.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seed physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum, 1994. 445p.
- BOPPER, S.; KRUSE, M. Development of a non-destructive germination test by measuring seed oxygen consumption. In: ISTA CONGRESS, 29., 2010. Cologne. **Seed Symposium Abstracts**. Cologne: ISTA, 2010. p.1-24.
- BRASIL. Instrução Normativa n.24, de 16 de dezembro de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 de dezembro de 2005, n.243, seção I, p.20.
- CALIARI, M.F.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de ervilha (*Pisum sativum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.12, n.3, p.52-75, 1990. Disponível em: <<http://www.abrates.org.br/revista/artigos/1990/v12n3/artigo05.pdf>>. Acesso em: 23 nov. 2010.
- CANTERI, M.G. et al. SASM-Agri: sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, Recife, v.1, n.2, p.18-24, 2001. Disponível em: <[http://www.agrocomputacao.deinfo.uepg.br/dezembro\\_2001/Arquivos/RBAC\\_Artigo\\_03.pdf](http://www.agrocomputacao.deinfo.uepg.br/dezembro_2001/Arquivos/RBAC_Artigo_03.pdf)>. Acesso em: 27 set. 2008.
- CÍCERO, S.M.; VIEIRA, R.D. Testes de frio. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p. p.151-164.
- DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, n.2, p.427-452, 1973. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_nlinks&ref=3776585&pid=S0006-8705198600010001200004&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=3776585&pid=S0006-8705198600010001200004&lng=en)>. Acesso em: 15 nov. 2010.
- FERNANDES, E.J. et al. Viabilidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) estimada pelo pH do exsudato. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília v.9, n.3, p.69-75, 1987. Disponível em: <<http://www.abrates.org.br/revista/artigos/1987/v9n3/artigo08.pdf>>. Acesso em: 5 out. 2010.
- LIMA, D. **Avaliação da viabilidade e vigor de sementes de cebola (*Allium cepa* L.)**. 1993. 61f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.
- LOEFFLER, T.M. et al. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v.12, n.1, p.37-53, 1988. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_nlinks&ref=22902750&pid=S0101-3122200600020001500010&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=22902750&pid=S0101-3122200600020001500010&lng=en)>. Acesso em: 3 set. 2010.
- MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C. et al. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.1.1-1.21.
- MENDES, C.R. et al. Respiratory activity for the differentiation of vigor on soybean seeds lots. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v.31, n.2, p.171-176, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v31n2/v31n2a20.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2010.
- MÜLLER, L.E. **Manual de laboratório de fisiologia vegetal**. Turrialba, Costa Rica: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A., 1964. 165p.
- MUNIZ, M.F.B. et al. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de melão. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.26, n.2, p.144-149, 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-31222004000200020](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222004000200020)>. Acesso em: 12 dez. 2009.

- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C. et al. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.1-24.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.
- SILVEIRA, M.A. et al. Comparação de métodos para avaliação da qualidade fisiológica em sementes de calêndula. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.24, n.2, p.24-30, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v24n2/v24n2a05.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2010.
- STEINER, F. et al. Germinação de sementes de rabanete sob temperaturas adversas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.4, n.4, p.430-434, 2009. Disponível em: <<http://www.agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria&page=article&op=viewArticle&path%5B%5D=606>>. Acesso em: 15 dez. 2010.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 820p.
- VANZOLINI, S. et al. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.29, n.2, p.90-96, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v29n2/v29n2a12.pdf>>. Acesso em: 27 set. 2010.
- VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C. et al. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.1-24.