

Efeito do período de envelhecimento acelerado no teste de condutividade elétrica e na qualidade fisiológica de sementes de feijão

Flávio Ferreira da Silva Binotti^{1*}, Kuniko Iwamoto Haga², Eliana Duarte Cardoso¹, Charline Zaratin Alves¹, Marco Eustáquio de Sá¹ e Orivaldo Arf¹

¹Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia, Universidade Estadual Paulista, Av. Brasil, 56, Cx. Postal 31, 15385-000, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil. ²Departamento de Biologia e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: flavio_agro@hotmail.com

RESUMO. A qualidade das sementes colocadas à disposição do produtor é de grande importância para obtenção de altas produtividades. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos causados por diferentes períodos de envelhecimento artificial na lixiviação de açúcares, proteínas, aminoácidos e íons no exsudato do teste de condutividade elétrica, e suas relações com a germinação e vigor de sementes de feijão da cultivar Pérola. O trabalho foi conduzido no Laboratório da FE de análises de sementes - Unesp Campus de Ilha Solteira. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizados, sendo que as sementes foram submetidas a oito períodos de envelhecimento acelerado (zero, 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas). A germinação e vigor de sementes de feijão cultivar Pérola e a quantidade de lixiviados no teste da condutividade elétrica são influenciados pelo aumento do período de exposição ao envelhecimento acelerado. A partir de 72 horas há uma queda expressiva na germinação e vigor, além do elevado aumento no conteúdo de lixiviados, sendo estes constituídos em grande parte de aminoácidos, açúcares, íons de potássio e fósforo. O aumento das quantidades de lixiviados está relacionado com queda na germinação e vigor das sementes.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., lixiviados, proteínas, íons, germinação, vigor.

ABSTRACT. Relationships of accelerated aging time with bulk conductivity test and with physiological seed quality in common bean. The high quality of seed trading for producers is very important to obtain high productivity. The aim of this work was to evaluate the effects of different periods of artificial seed aging on contents of sugars, proteins, amino acids and ions, on imbibition solution of electrical conductivity test, as well as its relationships with standard germination and vigor in bean seeds at the Perola cultivar. The research was carried out at the Laboratory of Seed Analysis - Faculdade de Engenharia - Unesp - Campus de Ilha Solteira. The experimental design was in completely randomized blocks. The seeds were submitted to eight accelerated aging conditions (zero, 24, 48, 72, 96, 120, 144 and 168 hours). The seed germination, seed vigor and leakage contents in exudates of bulk conductivity were influenced by the increase in the time of seed exposition to accelerated aging. After seventy- two hours of exposition to the aging, a considerable decline in seed germination and vigor was observed. There was also an increase of leakage contents, such as amino acids, sugars, potassium and phosphorus ions. The increase of leakage contents is inversely related to seeds germination and vigor.

Key words: *Phaseolus vulgaris* L., leakage, protein, ions, seed germination, vigor.

Introdução

A obtenção de altas produtividades no feijoeiro não está estreitamente relacionada só com a utilização de variedades melhoradas e um manejo adequado da cultura, mas também com a qualidade das sementes colocadas à disposição do produtor. A qualidade está relacionada com o grau de pureza física e varietal, poder de germinação, vigor e seu

estado fitossanitário. Assim, o aprimoramento dos métodos de análise da qualidade fisiológica das sementes de feijão, no sentido de oferecer maior segurança e precisão nos resultados obtidos de germinação e vigor das mesmas se torna importante.

O uso de sementes com potencial fisiológico elevado é fundamental na obtenção de resultados

satisfatórios em culturas de expressão econômica. Uma das ferramentas essenciais para alcançar esses resultados é a análise de sementes. Avaliar a qualidade de um lote de sementes em termos de estimar com que sucesso ele estabelecerá uma população adequada de plântulas em campo, sob uma ampla faixa de condições ambientais, é de grande importância para atingir eficiência na agricultura moderna (Arthur e Tonkin, 1991). A tecnologia de sementes tem procurado aprimorar os procedimentos para avaliar a qualidade de sementes, com o objetivo de obter resultados que expressem o desempenho potencial de um lote, destacando-se em particular, os estudos relativos aos testes de vigor (Vieira *et al.*, 1994).

A qualidade fisiológica tem sido um dos aspectos mais pesquisados nos últimos anos, em decorrência das sementes estarem sujeitas a uma série de mudanças degenerativas de origem bioquímica, fisiológica e física, após a sua maturação, as quais estão associadas com a redução do vigor (Abdul-Baki e Anderson, 1972). Na literatura, observa-se que os testes rápidos mais estudados estão relacionados com os eventos iniciais da seqüência de deterioração como a degradação das membranas celulares e a redução das atividades respiratórias e biossintéticas.

O objetivo básico dos testes de vigor é a identificação de diferenças importantes na qualidade fisiológica entre lotes de sementes comercializáveis, principalmente, daqueles com poder germinativo semelhante. Daí, a importância da disponibilidade de testes que procuram avaliar o estado atual das sementes, por meio da determinação de parâmetros associados ao vigor. Existem também, testes dirigidos à avaliação do comportamento das sementes, quando submetidas a condições específicas de ambiente, geralmente, estresses.

Os testes de vigor mais utilizados são os de envelhecimento acelerado e o de frio. Levantamentos efetuados pela Association of Official Seed Analysts indicaram que 56% dos laboratórios dos Estados Unidos e Canadá utilizam esses testes para avaliação do vigor e as espécies avaliadas com maior frequência são milho e soja (Spears, 1995).

O teste de condutividade elétrica é um método rápido para a avaliação do vigor das sementes, sendo que o valor da condutividade elétrica da solução de embebição da semente é função direta da quantidade de lixiviados no exsudato do teste, a qual está diretamente relacionada com a integridade das membranas celulares. Quanto maior o valor da condutividade elétrica, menor é o vigor das

sementes, pois a maior quantidade de lixiviados no exsudato do teste de condutividade elétrica ocorre em função das perdas da integridade das membranas celulares, células danificadas, membranas mal estruturadas, perda de constituintes celulares, com menor capacidade de reparação aos danos causados à semente, além de uma lentidão na reestruturação das membranas durante a embebição.

O potencial relativo de armazenamento de lotes de sementes, ou seja, o vigor das sementes pode ser avaliado pelo teste de envelhecimento acelerado. Este teste tem como base o fato de que a taxa de deterioração das sementes é aumentada consideravelmente por meio de sua exposição a níveis adversos de temperatura e umidade relativa do ar, considerados os fatores ambientais mais relacionados à deterioração das sementes.

O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos causados por diferentes períodos de envelhecimento artificial na lixiviação de açúcares, proteínas, aminoácidos e íons no exsudato do teste de condutividade elétrica, e suas relações com a germinação e vigor de sementes de feijão da cultivar Pérola, para verificar o período de exposição das sementes ao envelhecimento acelerado mais apropriado que permita avaliar adequadamente o vigor da semente.

Material e métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análises de Sementes do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio - Economia da Faculdade de Engenharia - Unesp, Campus de Ilha Solteira no período de janeiro a março de 2005. Foram utilizadas sementes da cultivar Pérola produzidas no período de inverno de 2004 que estavam armazenadas em câmara seca, cuja qualidade fisiológica está apresentada na Tabela 1.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizados, sendo que as sementes foram submetidas a oito períodos de envelhecimento acelerado (zero, 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas) e avaliadas quanto ao grau de umidade das sementes (%), primeira contagem de germinação no teste de germinação aos 5 dias, germinação aos 9 dias (%), índice de velocidade de germinação, comprimento do hipocótilo e da raiz primária (cm), massa fresca e seca (g plântula⁻¹), condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$), e lixiviação de açúcares, proteínas, aminoácidos e íons no exsudato da condutividade elétrica.

Tabela 1. Grau de umidade, massa de 100 sementes e qualidade fisiológica inicial de sementes de feijão da cultivar Pérola. Ilha Solteira, São Paulo, Brasil, 2005.

Grau de umidade das sementes (%)	Massa de 100 sementes (g)	1º contagem de germinação	Germinação (%)	IVG ¹	Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	Comprimento (cm)		Massa de matéria (g plântula ⁻¹)	
						Hipocótilo	Raiz	Fresca	Seca
13,25	24,20	92,50	93,50	9,30	67,8	6,43	8,10	0,8530	0,0673

¹Índice de velocidade de germinação.

Envelhecimento Acelerado - Foi realizado com quatro sub-amostras de 200 sementes para cada tratamento, pelo método de gerbox descrito por Marcos Filho (1994), onde 200 sementes foram colocadas sobre a tela de inox de uma caixa plástica (Gerbox), contendo no fundo 40 mL de água destilada. Após a colocação da tampa, as caixas foram levadas ao germinador regulado à temperatura de 41(\pm 0,5°C) onde permaneceram de acordo com os tratamentos utilizados, sendo: zero, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 horas. Transcorrido esse período, as sementes foram avaliadas quanto à condutividade elétrica, germinação, vigor e determinação química dos lixiviados no exsudato do teste de condutividade elétrica.

Germinação e vigor

Grau de Umidade - Foi determinado pelo método da estufa, a 105 (\pm 3°C) durante 24 horas, com utilização de 2 amostras para cada tratamento, conforme a metodologia indicada pelas regras para análise de sementes (Brasil, 1992).

Condutividade elétrica - Quatro sub-amostras de 25 sementes foram pesadas com precisão de três casas decimais e, posteriormente, colocadas em copo de plástico contendo 75 mL de água deionizada e, em seguida, levada à incubadora BOD a 25°C por 24 horas. Após esse período foram realizadas a leitura da condutividade elétrica da solução de embebição. Os dados foram transformados em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$, conforme Marcos Filho *et al.* (1987).

Primeira contagem de germinação do teste de germinação - Realizada juntamente com o teste de germinação. Sendo o registro da porcentagem de plântulas normais verificadas 5 dias após a instalação do teste (Brasil, 1992), em técnica semelhante à descrita por Nakagawa (1999).

Teste de germinação - Foi realizada com 4 sub-amostras de 50 sementes em rolos de papel germinador apropriado a 25°C, mantendo-se a temperatura constante. O papel foi umedecido com água destilada numa quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel, de forma a uniformizar o teste. As contagens foram realizadas aos 5 e 9 dias após a semeadura, de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras de Análise de Sementes (Brasil, 1992).

Índice de velocidade de germinação - Foi realizado em conjunto com o teste de germinação, no qual o índice de velocidade para cada tratamento foi calculado segundo a fórmula proposta por

Maguire (1962), apresentada a seguir:

$$VG = N1/D1 + N2/D2 + \dots + Nn/Dn$$

sendo;

VG = velocidade de germinação;

N1, N2, ..., Nn = número de plântulas germinadas a 1, 2, ..., n dias após a semeadura, respectivamente;

D1, D2, ..., Dn = número de dias após a implantação do teste.

Comprimento do hipocótilo e da raiz primária da plântula

- Foram colocadas 20 sementes em papel substrato pré-umedecido sobre duas linhas traçadas longitudinalmente (10 sementes sobre cada linha) espaçadas uniformemente com 4 repetições por tratamento para germinação. Os rolos foram envolvidos em sacos plásticos e foram colocados em germinador regulado a 25°C constante. Aos 5 dias, foram medidas em plântulas normais o comprimento do hipocótilo e da raiz primária da plântula, com uma régua graduada em cm. Para as análises estatísticas foram utilizados os valores médios obtidos.

Massa fresca e seca da plântula - Foram coletadas as plântulas normais da análise anterior (Comprimento do hipocótilo e da raiz primária da plântula), das quais foram determinadas as massas e os valores foram expressos em g plântula⁻¹ para obtenção de matéria fresca. Posteriormente, as plântulas coletadas foram submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada à temperatura média de 60-70°C, até atingir massa constante e determinadas as massas das mesmas e os valores expressos em g plântula⁻¹.

Análise química dos lixiviados do exsudato do teste da condutividade elétrica:

Quantificação de aminoácidos - O método de Yemm e Cocking (1955) foi utilizado na determinação de aminoácidos presentes no exsudato do teste de condutividade. A cada 1 mL da fração aquosa obtida, acrescentaram-se 500 μL de tampão citrato + 200 μL solução ninhidrina 5% em metil glicol + 1 mL de solução de KCN 0,2 mM. Foi aquecido em banho-maria a 100°C por 15 minutos e depois de resfriar por 10 minutos em água corrente, acrescentou-se 1 mL de álcool etílico 60%. Em seguida, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 570 nm. Os dados foram transformados em μg de aminoácidos para cada 1 g de semente utilizada no teste de condutividade elétrica (75

mL de solução de embebição).

Quantificação de açúcares - Quantificados pelo método fenol-sulfúrico descrito por Dubois (1956). Para 0,5 mL de exsudato obtido no teste de condutividade, adicionaram-se 0,5 mL de solução aquosa de fenol a 5% (W:V) e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi agitada e deixada em repouso por 15 minutos para completar a reação. Após resfriamento dos tubos, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 490 nm. Os dados foram transformados em μg de açúcares livres para cada 1 g de semente utilizada no teste de condutividade elétrica (75 mL de solução de embebição).

Quantificação de proteína - Para quantificação de proteína solúvel utilizou-se o método descrito por Bradford (1976). A cada 0,1 mL de exsudato obtido no teste de condutividade elétrica, foram acrescentados 5 mL do reagente de Bradford e mantido em repouso, por dois minutos, tempo necessário para se completar a reação. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 595 nm. Os dados foram transformados em μg de proteína para cada 1 g de semente utilizada no teste de condutividade elétrica (75 mL de solução de embebição).

Determinação de K, Ca, Mg, Zn, Mn, Cu e Fe no exsudato no teste da condutividade elétrica - Foi determinado em espectrofotômetro de absorção atômica. Os dados foram expressos em μg para cada 1 g de semente utilizada no teste de condutividade elétrica (75 mL de solução de embebição).

Determinação de P no exsudato no teste da condutividade elétrica - Foi determinado em espectrofotômetro a 420 nm. Os dados foram expressos em μg para cada 1 g de semente utilizada no teste de condutividade elétrica (75 mL de solução de embebição).

Todos os dados foram avaliados por meio da análise de variância pelo teste F, assim como verificado se houve ajuste à regressão polinomial. Foi utilizado o programa SANEST, Sistema de Análise Estatística para microcomputadores (Zonta e Machado, 1986).

Resultados e discussão

As análises estatísticas referentes ao vigor, germinação e lixiviados no exsudato do teste da condutividade elétrica das sementes de feijão da cultivar Pérola, apresentaram efeito quanto ao período de exposição ao envelhecimento acelerado (artificial), sendo que os dados obtidos se ajustaram em regressões polinomiais, pois quanto maior é o período de

exposição das sementes a um ambiente adverso com temperatura e umidade elevada, maior foi a taxa de deterioração das sementes. Segundo Delouche (2002), a duração do processo de deterioração é determinada principalmente, pela interação entre herança genética, o grau de umidade da semente e a temperatura. Santos et al. (2004) observaram que a atividade das enzimas fosfatase ácida, malato desidrogenase, glutamato desidrogenase e esterase são influenciadas pelo período de envelhecimento acelerado.

O grau de umidade da semente, que é influenciado pelo estresse decorrente da alta umidade relativa e temperatura elevada, foi crescente com o aumento da exposição da mesma ao envelhecimento artificial (Figura 1), que leva a uma maior deterioração da semente, o que provoca uma menor integridade do seu sistema de membranas e/ou menor seletividade, permitindo assim, a entrada de água mais rapidamente nas células e elevação no grau de umidade.

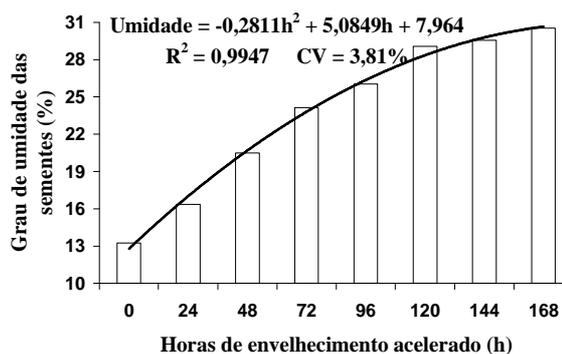


Figura 1. Relação entre horas de envelhecimento acelerado e o grau de umidade (%) de sementes de feijão. Ilha Solteira, Estado de São Paulo, 2005.

A porcentagem de plântulas normais oriundas das sementes de feijão avaliadas tanto na primeira contagem do teste de germinação aos 5 dias como na germinação aos 9 dias apresentaram redução no número de plântulas normais com a maior exposição ao envelhecimento acelerado (Figura 2). Fator já esperado, pois quanto maior a exposição ao envelhecimento acelerado, maior é a taxa de deterioração. Esse processo é consequência da exposição das mesmas às condições adversas de alta temperatura e umidade relativa, fatores ambientais que são considerados os mais relacionados com a deterioração das sementes. Após 72 horas de envelhecimento acelerado verificou-se queda expressiva na germinação, indicando que a partir desse período de exposição ao tratamento de envelhecimento a semente já não apresenta capacidade de reparação aos danos causados à

semente pela exposição à alta temperatura e umidade relativa, pois a perda da capacidade de germinação é consequência ou efeito final da deterioração. Os valores da primeira contagem do teste de germinação e a germinação aos 9 dias estão muito próximos, sugerindo alto vigor das sementes utilizadas e por ser um teste realizado em laboratório com condições controladas, de algumas ou de todos fatores externos, permitindo uma germinação mais regular e rápida.

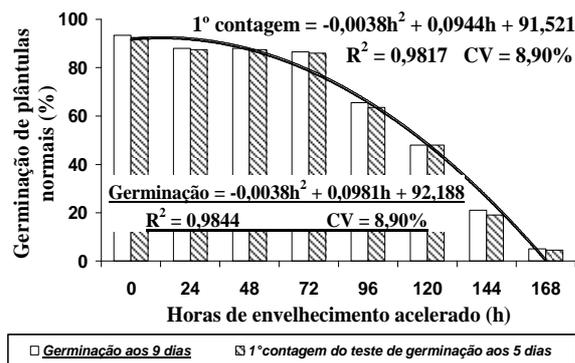


Figura 2. Relação entre horas de envelhecimento acelerado e a 1ª contagem do teste de germinação e a germinação aos 9 dias (%) de sementes de feijão. Ilha Solteira, Estado de São Paulo, 2005.

O envelhecimento artificial tem uma influência negativa no índice de velocidade de germinação (Figura 3) pelo fato das sementes sofrerem degeneração, pois quanto maior a exposição das mesmas ao envelhecimento acelerado maior será a perda do vigor, conseqüentemente, menor será a capacidade das sementes em estabelecer uma população de plântulas rapidamente, uniformemente e adequadamente.

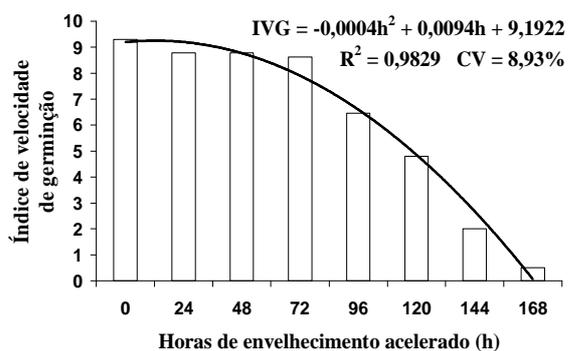


Figura 3. Relação entre horas de envelhecimento acelerado e o índice de velocidade de germinação de sementes de feijão. Ilha Solteira, Estado de São Paulo, 2005.

Tanto o comprimento do hipocótilo e da raiz primária de plântulas aos 5 dias (Figura 4), apresentaram aumento nos seus valores até 48 horas de

envelhecimento. O que pode estar relacionado com a ativação de certas enzimas que podem influenciar nas atividades metabólicas e desta forma, promover um maior crescimento, verificado pelo aumento do comprimento do hipocótilo e da raiz primária com exposição curta com uma temperatura mais elevada.

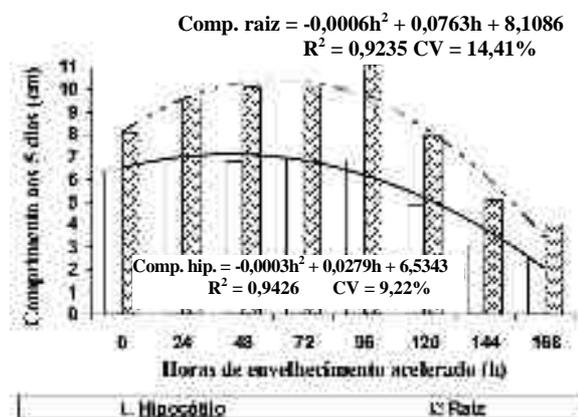


Figura 4. Relação entre horas de envelhecimento acelerado e o comprimento do hipocótilo e da raiz primária de sementes de feijão. Ilha Solteira, Estado de São Paulo, 2005.

Porém, a partir de 72 horas de envelhecimento acelerado, tanto o comprimento do hipocótilo como da raiz sofreram decréscimo no seu valor por causa da maior deterioração da semente e menor capacidade de reparação aos danos causados à semente pelo elevado período de exposição ao envelhecimento artificial.

Concordando com resultados de parâmetros já analisados e discutidos anteriormente, a massa fresca e seca (Figura 5) tem uma queda em seu valor com o aumento do período do envelhecimento acelerado, mostrando que o vigor da semente é influenciado negativamente pelo aumento do período de exposição ao envelhecimento artificial.

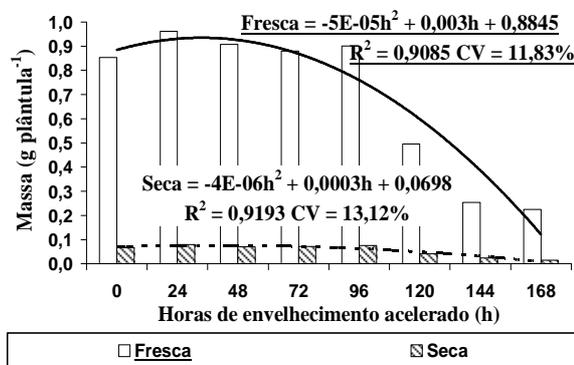


Figura 5. Relação entre horas de envelhecimento acelerado e a massa fresca e seca de plântulas de feijão aos 5 dias. Ilha Solteira, Estado de São Paulo, 2005.

Observa-se (Figura 6) que o aumento no período de envelhecimento acelerado eleva o valor de condutividade elétrica (parâmetro que avalia a permeabilidade das membranas), indicando aumento de líquidos na solução da condutividade, devido a maior exposição das sementes a condições adversas de umidade e temperatura, que levam à perda da integridade das membranas celulares, de constituintes celulares e menor capacidade de reparação aos danos causados à semente. É importante salientar que as condutividades em sementes submetidas a envelhecimento acelerado de 0 a 48 horas são semelhantes, indicando que até esse período de exposição ao envelhecimento artificial a semente ainda apresenta capacidade para reorganizar e reparar danos nas membranas. Porém, essa capacidade se reduz a partir de 72 horas, como pode ser evidenciado pela diminuição da germinação e vigor (Figura 2 e 3). De acordo com Santos *et al.* (2004), a partir de 72 horas de envelhecimento acelerado artificial, há redução na atividade das enzimas fosfatase ácida e esterase.

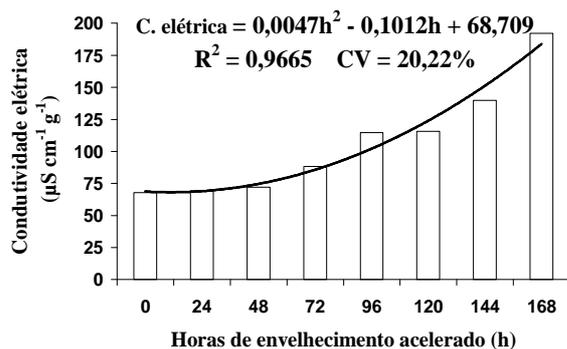


Figura 6. Relação entre horas de envelhecimento acelerado e a condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) de sementes de feijão. Ilha Solteira, Estado de São Paulo, 2005.

Na Figura 7 verifica-se que com o aumento da exposição das sementes ao envelhecimento acelerado a quantidade de aminoácidos lixiviados no exsudato do teste de condutividade elétrica aumentou, indicando que a maior exposição das sementes a condições adversas de umidade e temperatura resultou em uma maior perda de constituintes celulares, causadas pela perda da integridade das membranas celulares.

Em relação à lixiviação de proteínas no exsudato do teste da condutividade elétrica (Figura 8), observou-se valores semelhantes até 48 horas e uma queda em seus valores aos 72 e 96 horas e posteriormente, aumento nos seus valores até um valor máximo a 168 horas. Esse resultado sugere que as proteínas são estáveis ou que a deterioração da membrana que provocou aumento na condutividade

elétrica observada (Figura 6) provocou a lixiviação dos aminoácidos (Figura 7), porém, a de moléculas protéicas apenas com o tempo de 168 horas de envelhecimento acelerado. Com relação ao teor de açúcares no exsudato do teste da condutividade (Figura 8), verificou-se uma ligeira queda nos seus valores, mas posteriormente, ocorreu aumento com a maior exposição ao envelhecimento acelerado.

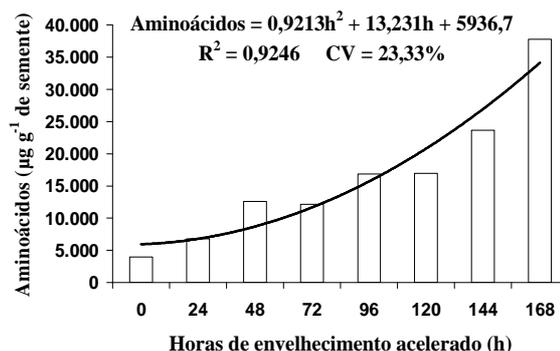


Figura 7. Relação entre horas de envelhecimento acelerado e aminoácidos (μg) lixiviados no exsudato da condutividade elétrica (75 mL de água) para cada 1 g de semente utilizada no teste. Ilha Solteira, Estado de São Paulo, 2005.

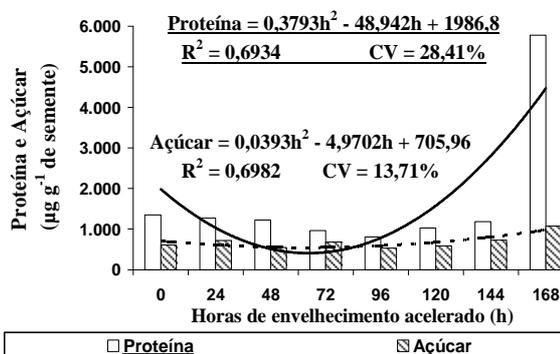


Figura 8. Relação entre horas de envelhecimento acelerado, e proteínas e açúcares (μg) lixiviados no exsudato da condutividade elétrica (75 mL de água) para cada 1 g de semente utilizada no teste. Ilha Solteira, Estado de São Paulo, 2005.

Nas Figuras 9 e 10, estão os resultados de íons de fósforo, potássio, magnésio e cálcio lixiviados no exsudato do teste de condutividade elétrica. Pode-se verificar de modo geral um aumento em seus valores com aumento do período de exposição ao envelhecimento acelerado, em decorrência, provavelmente, da perda da integridade da membrana. Com exceção ao fósforo que foi semelhante nos tempos de 0, 24 e 48 h, e queda nos tempos de 72, 96 e 120 h, e aumento a 144 e 168 h. A curva obtida a partir da perda de fósforo nos diferentes períodos de envelhecimento acelerado indica uma resistência à lixiviação nos períodos de envelhecimento acelerado de

24 e 48 h. A diminuição de fósforo as 72, 96 e 120 horas pode estar relacionada ao aumento do metabolismo ligado a integridade da membrana, havendo queda na concentração do mesmo.

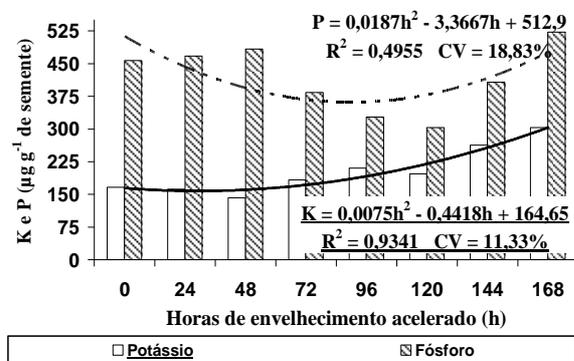


Figura 9. Relação entre horas de envelhecimento acelerado e íons de K e P (µg) lixiviados no exsudato da condutividade elétrica (75 mL de água) para cada 1 g de semente utilizada no teste. Ilha Solteira, Estado de São Paulo, 2005.

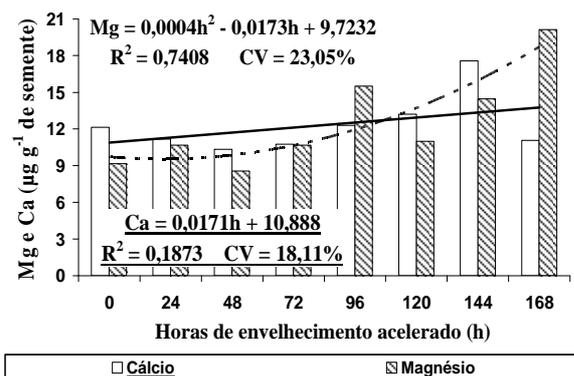


Figura 10. Relação entre horas de envelhecimento acelerado e íons de Mg e Ca (µg) lixiviados no exsudato da condutividade elétrica (75 mL de água) para cada 1 g de semente utilizado no teste. Ilha Solteira, Estado de São Paulo, 2005.

Os íons de ferro e cobre só foram observados no exsudato do teste da condutividade elétrica nos tratamentos com 144 e 168 horas de envelhecimento acelerado (Tabela 2), entretanto, aparecendo em baixas quantidades. Já os íons de manganês e zinco não ocorreram no exsudato do teste da condutividade elétrica, em nenhum dos períodos de envelhecimento acelerado.

Tabela 2. Relação entre horas de envelhecimento acelerado e íons de Fe e Cu (µg) lixiviados no exsudato da condutividade elétrica (75 mL de água) para cada 1 g de semente utilizada no teste. Ilha Solteira, Estado de São Paulo, 2005.

µg g⁻¹ de semente	Período de envelhecimento acelerado (h)							
	0	24	48	72	96	120	144	168
Ferro	---	---	---	---	---	---	2,9700	1,2927
Cobre	---	---	---	---	---	---	0,1795	0,4197

Na Figura 9 está apresentada a quantificação do íon de potássio na solução de embebição das sementes, que pode ser utilizado como um método rápido para avaliar indiretamente o vigor das sementes, uma vez que o aumento no exsudato do teste da condutividade elétrica, confrontado com a germinação e vigor das sementes, permitem concluir que o aumento da concentração deste na solução de embebição das sementes está inversamente relacionado com queda na germinação e vigor das sementes. Sendo assim, é de grande importância novos estudos com esse íon para uma avaliação mais rápida do vigor das sementes, podendo até serem utilizados futuramente para avaliar o ponto ideal de colheita das sementes para que estas apresentem o maior vigor possível. Dias *et al.* (1995 e 1996) e Custódio e Marcos Filho (1997) verificaram que a quantidade de potássio lixiviados mostrou-se como parâmetro adequado para a identificação de lotes de sementes de soja com diferentes níveis de vigor e potencial de emergência em campo. Entretanto, segundo Dias *et al.* (1998), o teste de lixiviação de potássio necessita de estudos adicionais para adequar sua metodologia e viabilizar a sua utilização mais ampla.

Houve uma tendência de queda na germinação e maior quantidade de lixiviados no exsudato do teste de condutividade elétrica a partir de 72 horas de envelhecimento acelerado. Provavelmente, a partir desse período a semente não apresente uma grande capacidade para reorganizar e reparar danos provocados pelo estresse de alta temperatura e umidade, indicando que o seu vigor já foi afetado, refletindo assim em uma queda expressiva na germinação.

Observa-se que à medida que aumentam as horas de envelhecimento acelerado (artificial), os valores da condutividade elétrica aumentam também por causa da maior perda da integridade das membranas celulares e de constituintes celulares (Figuras 7, 8, 9 e 10), afetando negativamente a germinação e vigor das sementes (Figuras 2, 3, 4, 5). O aumento das quantidades de lixiviados está diretamente relacionado com queda na germinação e vigor das sementes. Isso evidencia que o teste da condutividade elétrica é um método eficaz para avaliar o vigor das sementes de feijão, dados que concordam com os obtidos por Dias *et al.* (1998), que por meio de uma análise global dos resultados observaram que o teste de condutividade elétrica mostrou-se eficiente para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes de feijão-de-vagem e quiabo, fornecendo informações rápidas que auxiliam na agilização dos programas de controle de qualidade de sementes.

Outro aspecto importante é que a maior parte de

lixiviados na solução de embebição do teste de condutividade é constituído de aminoácidos e açúcares, e os íons de potássio e fósforo, talvez em decorrência da maior quantidade deles nas sementes, visto que sementes de feijão são aleuro-amiláceas (principais produtos de reserva são: proteína e amido) e os dois íons são de macronutrientes, sendo exportados pelos grãos de feijão em grandes quantidades.

Conclusão

A germinação e vigor de sementes de feijão cultivar Pérola e a quantidade de lixiviados no teste da condutividade elétrica são influenciados pelo aumento do período de exposição ao envelhecimento acelerado (artificial).

No exsudato do teste da condutividade, grande parte dos lixiviados são constituídos de aminoácidos, açúcares e íons de potássio e fósforo, sendo que o aumento das quantidades de lixiviados está relacionado com queda na germinação e vigor das sementes, evidenciando a eficiência do teste de condutividade elétrica como método de avaliação do vigor.

O período de exposição das sementes de feijão ao envelhecimento acelerado, a partir de 72 horas já produz resultados que refletem no potencial de vigor que as sementes apresentam, podendo assim, gerar dados que servem como base para determinar o possível potencial de armazenamento da semente.

Referências

ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWSKI, T.T. (Ed.). *Seed biology*. New York: Academic Press, 1972. p. 283-315.

ARTHUR, T.J.; TONKIN, J.H.B. Testando o vigor da semente. *Inf. Abrates*, Londrina, v. 1, p. 38-41, 1991.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method of microgram quantity of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura. *Regras para Análises de Sementes*. Brasília: SNAD/CLAV, 1992.

CUSTÓDIO, C.C.; MARCOS-FILHO, J. Potassium leachate test for the evaluation of soybean seed physiological quality. *Seed Sci. and Technol.*, Zürich, v. 25,

n. 3, p. 549-564, 1997.

DELOUCHE, J. Germinação, deterioração e vigor da semente. *Seed News*, Pelotas, n. 6, p. 24-31, 2002.

DIAS, D.C.F.S. et al. Teste de lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). *Sci. Agric.*, Piracicaba, v. 52, n. 3, p. 444-451, 1995.

DIAS, D.C.F.S. et al. Potassium leakage test for the evaluation of vigour in soybean seeds. *Seed Sci. and Technol.*, Zürich, v. 25, n. 1, p. 7-18, 1996.

DIAS, D.C.F.S. et al. Condutividade elétrica e lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de hortaliças: feijão-de-vagem e quiabo. *Rev. Bras. Sem.*, Londrina, v. 20, n. 2, p. 170-175, 1998.

DUBOIS, M. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Biochem.*, New York, v. 28, p.350-356, 1956.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and avaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Sci.*, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. et al. *Avaliação da qualidade das sementes*. Piracicaba: Esalq, 1987.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Ed.). *Teste de vigor em sementes*. Jaboticabal: Funep, 1994. p. 133-149.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C. et al. (Ed.). *Vigor de sementes: Conceitos e testes*. Londrina: Abrates, 1999. p. 2.1-2.24.

SANTOS, C.M. et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. *Rev. Bras. Sem.*, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 110-119, 2004.

SPEARS, J.F. An introduction to seed vigour testing. In: VAN DER VENTER, H.A. (Ed.) *Seed vigour testing seminar*. Zürich: International Seed Testing Association, 1995. p. 1-9.

VIEIRA, R.D. et al. Teste de vigor e suas possibilidades de uso. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Ed.). *Teste de vigor em sementes*. Jaboticabal: Funep/Unesp, 1994. p. 31-47.

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. *Sistema de Análise Estatística para microcomputadores - Sanest*. Pelotas: UFPel, Instituto de Física e matemática, 1986.

YEMM, E.M.; COCKING, E.C. Estimation of amino acids by ninhydrin. *Analyst*, London, v. 80, p. 209-213, 1955.

Received on March 09, 2006.

Accepted on October 09, 2007.