

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

AGRONOMIA

**TESTE DO pH DO EXSUDATO PARA A AVALIAÇÃO DA
QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE RÚCULA**

GABRIEL MENDES OLIVA SANTOS



GABRIEL MENDES OLIVA SANTOS

TESTE DO pH DO EXSUDATO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA
DE SEMENTES DE RÚCULA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada
ao Instituto de Ciências Agrárias da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Delacyr da Silva Brandão
Junior

Montes Claros
2021

Gabriel Mendes Oliva Santos. Teste do pH do exsudato para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de rúcula.

Aprovado pela banca examinadora constituída por:

Cândido Alves da Costa (ICA/UFMG)

Josiane Cordeiro dos Santos (ICA/UFMG)

Prof. Dr. Delacyr da Silva Brandão Junior – Orientador ICA/UFMG

Montes Claros, 02 de setembro de 2021

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, pois Ele é o responsável por todas as minhas conquistas, sendo meu guia em minhas decisões.

À Universidade Federal de Minas Gerais, à coordenação, ao colegiado da agronomia, seu corpo docente, direção e administração.

Ao meu orientador Professor Delacyr da Silva Brandão Junior, pela oportunidade, orientação e ensinamentos.

Ao Professor Cândido Alves da Costa, integrante da banca examinadora.

A todos os amigos do Laboratório de Sementes, pelo acolhimento, por todos os ensinamentos e os bons momentos divididos.

À minha coorientadora Josiane Cordeiro dos Santos, além dos colegas José Victor Maurício de Jesus e Carolina Marques, que me ajudaram na elaboração desse trabalho, compartilhando comigo seus conhecimentos e dedicando para que eu pudesse aprimorar meu aprendizado.

Aos meus pais, Benigno Antônio Oliva e Vainer Mendes Nascimento Oliva, pelo apoio em minha jornada tanto acadêmica quanto pessoal, pelos ensinamentos e exemplos fundamentais para formação do meu caráter.

Ao meu irmão e grande amigo Lucas Mendes Oliva Santos, sendo um exemplo para mim e base fundamental da minha vida.

À minha namorada Fernanda Garcia, que é uma grande amiga e companheira em todos os momentos bons e difíceis, e que sempre me apoiou em minhas decisões e me ajudou a ser uma pessoa melhor hoje, espero sempre continuarmos aprendendo e crescendo juntos.

Aos meus amigos, que sempre foram incentivadores e conselheiros em minhas decisões.

RESUMO

O presente trabalho objetivou avaliar a eficiência de períodos de embebição em água para a realização do teste de pH do exsudato-fenolftaleína e do método de quantificação por espectrofotometria na região do Ultravioleta - visível (UV-VIS) na determinação de viabilidade e vigor de sementes de rúcula. Os lotes de sementes de rúcula de diferentes estádios de maturação (01 - Imatura, 02 - Intermediária e 03 - Madura), as sementes passaram por dois períodos de embebição em água destilada, 30 e 60 minutos. Todos os testes foram realizados em delineamento inteiramente casualizado (DIC), disposto em arranjo fatorial 3 x 2 (três estádios de maturação e dois períodos de embebição), com quatro repetições com 25 sementes em cada. A qualidade das sementes foi avaliada pelos testes de germinação, primeira contagem de germinação, massa seca de plântula, comprimento de plântula, índice de velocidade de germinação (IVG) e pH do exsudato-fenolftaleína (análise visual e pelo espectrofotômetro). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P \leq 0,05$), utilizando o software R Studio (versão 4.0.4). Apesar de significativos ($p \leq 0,05$) as avaliações visuais não correlacionaram com os outros testes fisiológicos, o que demonstra a sensibilidade do teste a subjetividade durante a avaliação. O teste do pH exsudato-fenolftaleína com 30 minutos de embebição em água destilada foi capaz de verificar o vigor de sementes de rúcula. Devido a subjetividade da análise visual a espectrofotometria é uma ferramenta para a validação do teste. Estudos futuros podem aperfeiçoar a análise visual, através de paleta de cores, por exemplo.

Palavras-chave: hortaliça, *Eruca sativa* L., viabilidade, vigor, fenolftaleína; espectrofotômetro.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Quadrado médio dos testes de Germinação (G), Primeira contagem (PC), Comprimento de Plântula (CP), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Massa Seca de Plântula (MS), número de plântulas normais (PN), porcentagem de sementes viáveis pelo teste do pH do exsudado-fenolftaleína (pH Viab), Vigor de sementes pelo teste de pH do exsudado-fenolftaleína (pH Vig), Média obtida no Espectrofotometro (ESP) de semente de Rúcula (*Eruca sativa* L.) em três estádios de maturação (M), submetidas a dois períodos de embebição em água destilada (T), Montes Claros, 2021.....18

TABELA 2. Valores médios do índice de velocidade de germinação (IVG), primeira contagem de germinação (1ª Cont.), germinação (Germ.), porcentagem de sementes viáveis pelo teste do pH do exsudado-fenolftaleína (pH Viab), porcentagem de vigor de sementes pelo teste de pH do exsudado-fenolftaleína (pH Vigor), comprimento de plântula (CP) e massa seca de plântulas (MS) de semente de Rúcula (*Eruca sativa* L.) em estádios de maturação. Montes Claros-MG, 2021.....18

TABELA 3. Valores médios do índice de velocidade de germinação (IVG), primeira contagem de germinação (1ª Cont.), germinação (Germ.), porcentagem de sementes viáveis pelo teste do pH do exsudado-fenolftaleína (pH Viab), porcentagem de vigor de sementes pelo teste de pH do exsudado-fenolftaleína (pH Vigor), comprimento de plântula (CP) e massa seca de plântulas (MS) de sementes de Rúcula (*Eruca sativa* L.) sobre dois períodos de tempos de embebição em água destilada. Montes Claros-MG, 2021.....19

TABELA 4. Valores médios de espectrofotometria (nm) da solução de sementes de Rúcula (*Eruca sativa* L.) em três diferentes estádios de maturação, submetidos a diferentes períodos de embebição em água destilada, segundo o teste de pH do exsudado-fenolftaleína, Montes Claros-MG, 2021.....19

TABELA 5. Correlação simples de Pearson entre os testes de caracterização: índice de velocidade de germinação (IVG), primeira contagem de germinação (PC), germinação (G), porcentagem de sementes viáveis pelo teste do pH do exsudado-fenolftaleína (pH Viab), porcentagem de vigor de sementes pelo teste de pH do exsudado-fenolftaleína (pH Vigor), comprimento de plântula (CP), massa seca de plântulas (MS) e a espectrofotometria (ESP.) de sementes de Rúcula (*Eruca sativa* L.), em três estádios de maturação, submetidas a dois períodos de embebição em água destilada, Montes Claros, 2021.....20

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1 - Tubos de eppendorf utilizados na avaliação do pH exsudato fenolftaleína em sementes de rúcula.....15
- FIGURA 2 – Espectrofotômetro utilizado nas análises da solução do pH exsudato-fenolftaleína.....16
- FIGURA 3 - Placas gerbox em substrato (papel germitest autoclavado) utilizadas nas avaliações do vigor de sementes de rúcula.....17
- FIGURA 4 - Plântulas normais aos 4º e ao 7º dia após instalação do teste.....17

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REFERÊNCIAL TEÓRICO	11
	2.1 Rúcula (<i>Eruca sativa</i> L.)	11
	2.2 Análise de sementes	11
	2.3 Teste de pH de exsudado de sementes	13
3	MATERIAL E MÉTODOS	14
	3.1 pH fenolftaleína (visual e espectrofotometria)	15
	3.2 Germinação e Primeira contagem de plântulas normais	15
	3.3 Índice de Velocidade de Germinação (IVG)	16
	3.4 Desenvolvimento de plântulas (comprimento e massa de matéria seca de plântulas)	17
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5	CONCLUSÃO	21
	REFERÊNCIAS	22

1 INTRODUÇÃO

A produção de hortaliças é uma atividade em constante expansão em todo território brasileiro, com o cultivo em áreas rurais e urbanas (CRIVELARE; CORRÊA; SILVA, 2021). A rúcula (*Eruca sativa* L.) é uma hortaliça anual pertencente à família Brassicaceae, a espécie tem sido cada vez mais cultivada no Brasil, com um crescimento de 26% no cultivo entre os anos de 2013 e 2016 (LIMA *et al.*, 2021). Hortaliças cultivadas de forma intensiva devem ser estabelecidas com o uso de sementes com alta qualidade e há um consenso entre pesquisadores, técnicos e produtores de sementes sobre a importância do vigor das sementes, bem como a necessidade em avaliá-lo (FREITAS *et al.*, 2018). A avaliação rápida da qualidade da semente permite a tomada de decisão preventiva durante as operações de colheita, processamento, venda e armazenamento, otimizando assim o uso de recursos financeiros ao longo desses processos (RAMOS *et al.*, 2012).

Os métodos de rotina usados para determinar a viabilidade e o vigor das sementes incluem o teste de germinação e o teste de tetrazólio (RAMOS *et al.*, 2012; ARALDI; COELHO, 2015). No entanto, tais testes apresentam inconveniências como o tempo de execução e o custo elevado, respectivamente (MATOS; MARTINS; MARTINS, 2009). Além disso, o teste de germinação pode estimar o desempenho das sementes a campo de forma incorreta, uma vez que as condições em laboratório não representam a realidade a campo e, conseqüentemente, a emergência das plântulas pode ser significativamente menor do que a observada (LOPES; SILVA; VIEIRA, 2013). O teste de tetrazólio substitui o teste de germinação com vantagem de ser rápido, relativamente simples, barato, de alto valor informativo e confiável/reproduzível, além de permitir a avaliação da viabilidade e de vigor, entretanto, o tamanho da semente de rúcula (720 sementes g⁻¹) inviabiliza a obtenção de corte e a análise do tetrazólio (STEINER *et al.*, 2011).

Por outro lado, a avaliação da viabilidade pelo teste do pH do exsudato possui baixo custo se comparada ao teste de tetrazólio, apresenta rapidez na obtenção de resultados e facilidade de execução, evita a utilização e/ou armazenamento desnecessário de lotes com baixo vigor, tornando a técnica promissora (AMARAL; PESKE, 2000; RAMOS *et al.*, 2012). Apesar da simplicidade e rapidez do teste de pH do exsudato a avaliação baseada somente na cor pode causar erro na interpretação dos resultados, devido a falha durante a avaliação visual (RIBEIRO, 2018). Para redução da subjetividade do pH do exsudato, a interpretação visual dos resultados pode ser acompanhada por análise de imagem e, ou colorimetria.

Com base no exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a eficiência de períodos de embebição em água para a realização do teste de pH do exsudato-fenolftaleína e do método de quantificação por espectrofotometria na região do Ultravioleta - visível (UV-VIS) na determinação de viabilidade e vigor de sementes de rúcula.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Rúcula (*Eruca sativa* L.)

A rúcula (*Eruca sativa* L.) pertencente à família Brassicaceae, consumida, principalmente, na forma de salada (ARAÚJO *et al.*, 2020). A popularidade da rúcula como cultura é devida ao sabor picante de suas folhas, que são usadas em guarnição de saladas, petiscos e grande variedade de pratos, sua semente é utilizada como fonte de óleo na Índia e na fitoterapia tradicional, com vários propósitos (HARDER; ZÁRATE; VIEIRA, 2005). Além disso, o aumento no seu consumo pode ser devido sua composição nutricional, apresentando altos teores de potássio, enxofre, ferro e vitaminas (TORRES *et al.*, 2016).

É uma hortaliça folhosa herbácea de rápido crescimento vegetativo e ciclo curto, as flores são auto-estéreis de cor amarela brilhante, a fruta é siliqua, com 2,5 cm de comprimento e as suas sementes são pequenas, de cor marrom avermelhado claro (OLIVEIRA *et al.*, 2010; SHARMA *et al.*, 2012). Originária do sul da Europa e da parte ocidental da Ásia, foi introduzida no Brasil por imigrantes italianos, pelos quais ainda é muito apreciada. (STEINER *et al.*, 2011).

No Brasil, *E. sativa* é representada principalmente pelas cultivares ‘Cultivada’ e ‘Folha Larga’, existe ainda outras duas espécies também denominadas rúcula e utilizadas no consumo humano, *Diplotaxis tenuifolia* (L.) e *Diplotaxis muralis* (L.), ambas perenes (STEINER *et al.*, 2010). De acordo com o Censo Agropecuário do IBGE (2017), 41,7 mil toneladas de rúcula foram produzidas em 20.602 estabelecimentos agrários do país em 2017, demonstrando a relevância econômica dessa hortaliça pela extensão da sua área cultivada. Entre tanto, os custos com sementes e mão de obra podem onerar a sua produção; portanto, pesquisas relacionadas com a qualidade das sementes, a fim de reduzir os custos de produção são necessárias (TORRES *et al.*, 2016).

2.2 Análise de sementes

O estabelecimento de lavouras de grãos, hortaliças, frutas e forrageiras costuma ser realizado com o uso direto ou indireto de sementes, e estima-se que aproximadamente 80% das safras economicamente significativas sejam plantadas dessa forma (MARCOS-FILHO, 2015). As sementes, devido ao alto valor comercial, merecem atenção especial quanto ao potencial fisiológico, entretanto, há uma demanda por informações que possam fornecer subsídios e apoio aos programas de controle de qualidade (ALVES *et al.*, 2011).

A definição de vigor da semente formulada pela Associação de Analistas Oficiais de Sementes (AOSA, 1983) é “a soma de todas as propriedades que determinam o potencial de emergência rápida e uniforme e desenvolvimento de mudas normais em uma ampla gama de condições de campo”. Os testes de vigor são ferramentas de uso rotineiro da indústria de sementes, visando à determinação do potencial fisiológico, tais testes são utilizados em programas internos de controle de qualidade (TORRES; PEREIRA, 2010). Esses testes são componentes essenciais de programas de controle de qualidade, pois buscam evitar o manuseio e a comercialização de sementes de qualidade inadequada (MENDONÇA; RAMOS; FESSEL, 2004).

Existem inúmeros testes que avaliam o vigor da semente, incluindo aqueles que avaliam direta ou indiretamente o estado metabólico atual da semente para estabelecer uma relação com a emergência e o armazenamento (MARCOS-FILHO, 2015). Dentre eles, estão os testes classificados como rápidos, que são os de tetrazólio, condutividade elétrica, pH do exsudato (fenolftaleína), entre outros (DODE *et al.*, 2013). Um aspecto importante dos testes rápidos, é a possibilidade de diagnosticar problemas que causam a perda da qualidade das sementes, como danos provocados por umidade, injúrias mecânicas, danos provocados por ataque de insetos e danos causados por secagem em um curto período (CARVALHO *et al.*, 2002). Assim, a utilização de testes rápidos e precisos para estimar o potencial de germinação e vigor é desejada para gerar informações em curto período, permitindo a destinação adequada das sementes (CARVALHO *et al.*, 2018).

O teste de tetrazólio baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases as quais catalisam as reações respiratórias nas mitocôndrias, durante a glicólise e o ciclo de Krebs (AOSA, 1983). Entretanto, as sementes imersas na solução tetrazólio devem ser colocadas em câmara à temperatura de 30 – 40°C, e mantidas no escuro, pois a solução de tetrazólio é fotossensível, e a luz pode alterar a coloração e comprometer os resultados do teste (MARCOS-FILHO, 2015). O que torna o teste mais oneroso e exige mão de obra mais especializada. Além disso, o tamanho da semente de rúcula (720 sementes g⁻¹) inviabiliza a obtenção de corte e a análise do tetrazólio (STEINER *et al.*, 2011).

O teste de condutividade elétrica visa avaliar indiretamente a intensidade dos danos causados às membranas celulares resultantes do processo de deterioração da semente, portanto, àquelas sementes com menor vigor liberam maior quantidade de lixiviados, como consequência da menor estruturação e seletividade das membranas (VIEIRA *et al.*, 2002; TORRES *et al.*, 2015). O teste de condutividade elétrica é eficiente na separação dos lotes de

rúcula com relação ao potencial fisiológico, entre tanto, os mesmos autores concluíram que a condição mais adequada para a realização deste teste seria a embebição das sementes em água (a 25°C) por 4 horas (LEAL *et al.*, 2012; ALVES; SÁ, 2009).

Além dos testes rápidos, o teste de germinação é sem dúvida, uma excelente ferramenta para comparar o potencial de germinação de diferentes lotes de sementes (MATERA; SUZUKAWA, 2019). No entanto, devido às suas limitações, principalmente quanto às condições ideais em que é realizado, o teste de germinação pode apresentar menor sensibilidade para diferenciação da qualidade fisiológica desses lotes, gerando frequentemente resultados diferentes dos observados em campo (MATERA; SUZUKAWA, 2019).

2.3 Teste de pH de exsudado de sementes

Na atualidade, uma das principais exigências em termos de avaliação da qualidade das sementes, refere-se à rapidez na obtenção de resultados confiáveis permitindo a agilidade da tomadas de decisões (BARBIERI *et al.*, 2012). À medida que o controle de qualidade evolui dentro dos programas das empresas produtoras, cresce a necessidade da adequação de metodologias específicas às diferentes espécies de sementes (SANTANA *et al.*, 1998). Em função disto, 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 (REIS *et al.*, 2010).

Os testes de vigor que partem do princípio da integridade das membranas celulares vêm ganhando atenção especial por serem rápidos e confiáveis, o que acelera a tomada de decisões para que medidas preventivas e corretivas possam ser tomadas para assegurar a qualidade fisiológica das sementes (RAMOS *et al.*, 2012). O teste de pH do exsudato-fenolftaleína é um teste de vigor considerado promissor, possibilitando a rápida avaliação da viabilidade de sementes de diversas espécies como arroz (*Oryza sativa* L.) (SANTOS *et al.*, 2019), soja (*Glycine max*) (THEDORO *et al.*, 2018), bem como espécies florestais como o pau-ferro (*Libidibia férrea*) (SOUTO *et al.*, 2019), araucária (*Araucaria angustifolia*) (ARALDI; COELHO, 2015).

Possibilitando a determinação da qualidade das sementes, sendo baseado na permeabilidade das membranas e envolve tanto a lixiviação de metabólitos quanto a integridade do tegumento. (ALVES *et al.*, 2016; SOUTO *et al.*, 2019). O teste é fundamentado na acidificação do meio de embebição devido à liberação de açúcares, ácidos orgânicos e íons H⁺ que provocam a diminuição do pH do exsudato das sementes. Muitas

soluções de indicadores podem ser usadas para medir o pH, uma delas é a fenolftaleína (ALVES *et al.*, 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análises de Sementes do Instituto de Ciências Agrárias, campus da Universidade Federal de Minas Gerais (LAS-ICA/UFMG), no município de Montes Claros, localizado no Norte de Minas Gerais, sob as coordenadas 16°51'38"S e 44°55'00"W, altitude de 678m e segundo Köppen e Geiger a classificação do clima é do tipo Aw, considerado tropical de savana, com inverno seco e verão chuvoso.

Os lotes de sementes de rúcula de diferentes estádios de maturação (01 - Imatura, 02 - Intermediária e 03 - Madura) oriundas de síliquas em diferentes colorações (verde, amarela e palha, respectivamente) foram produzidos na Fazenda Experimental Hamilton de Abreu Navarro (FEHAN – ICA/UFMG), colhidas em setembro de 2020.

Antes de cada teste as sementes passaram por dois períodos de embebição em água destilada, 30 e 60 minutos. Todos os testes foram realizados em delineamento inteiramente casualizado (DIC), disposto em arranjo fatorial 3 x 2 (três estádios de maturação e dois períodos de embebição), com quatro repetições com 25 sementes em cada.

A qualidade das sementes foi avaliada pelos testes de germinação, primeira contagem de germinação, massa seca de plântula, comprimento de plântula, índice de velocidade de germinação (IVG) e pH do exsudato-fenolftaleína (análise visual e pelo espectrofotômetro). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P \leq 0,05$), utilizando o software R Studio (versão 4.0.4).



FIGURA 1 - Tubos de eppendorf utilizados na avaliação do pH exsudato fenolftaleína em sementes de rúcula

3.1 pH fenolftaleína (visual e espectrofotometria)

Para realização do teste pH do exsudato-fenolftaleína as sementes foram individualizadas em tubos de eppendorf contendo 2 mL de água destilada (fig. 01). Após os períodos de embebição (30 e 60 minutos) em água destilada, adicionou-se, em cada tubo, uma gota de solução de carbonato de sódio (0,43 g de carbonato de sódio anidro dissolvido em 200 mL de água destilada e fervida) e uma gota de solução de fenolftaleína (um grama de fenolftaleína dissolvido em 100 mL de álcool acrescido de 100 mL de água destilada e fervida), após homogeneização da solução, realizou-se, imediatamente, a avaliação visual em função da coloração da solução de embebição (AMARAL; PESKE, 1984).

Após o teste nos tubos em que a solução adquiriu coloração rosa-escura, as sementes foram computadas como viáveis com probabilidade de originarem plântulas normais; a coloração rosa-clara possivelmente indicaria sementes que resultariam em plântulas anormais e a coloração incolor refletiria a inatividade fisiológica das sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes viáveis com probabilidade de originar plântulas normais.



FIGURA 2 – Espectrofotômetro utilizado nas análises da solução do pH exsudato-fenolftaleína.

Após a avaliação visual a solução dos tubos de eppendorf foram levados ao espectrofotômetro modelo Agilent technologies cary 60 UV-Vis (fig. 02) calibrado na faixa de 500 nm para análise cromatográfica dos fluídos e os resultados foram apresentados em comprimento de onda (nm).

3.2 Germinação e Primeira contagem de plântulas normais

As sementes, após a realização do teste pH do exsudato-fenolftaleína, foram transferidas para placas gerbox em substrato (papel germitest autoclavado) umedecido com água destilada no volume equivalente a 2,5 vezes o peso seco e levados para uma câmara de

germinação do tipo BOD (Fanem modelo 347-G) previamente regulado à temperatura de 22 °C e com luz constante.

As avaliações do teste de germinação ocorrem no 4º e 7º dia após a instalação do teste, e foram registradas as plântulas normais (BRASIL, 2009). A taxa de germinação foi calculado dividindo-se o número de plântulas normais pela quantidade de sementes inicial (MAGUIRE, 1962). Realizado concomitantemente ao teste de germinação, a primeira contagem de germinação, foi obtida pelo número de plântulas normais, avaliadas diariamente após a instalação do teste, sendo os resultados expressos dias até a germinação.

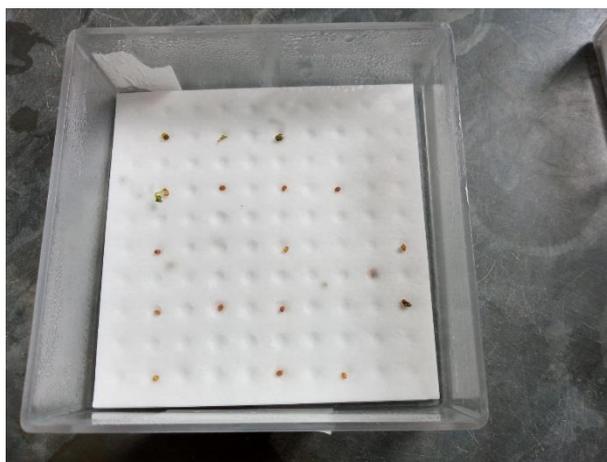


FIGURA 3 - Placas gerbox em substrato (papel germitest autoclavado) utilizadas nas avaliações do vigor de sementes de rúcula

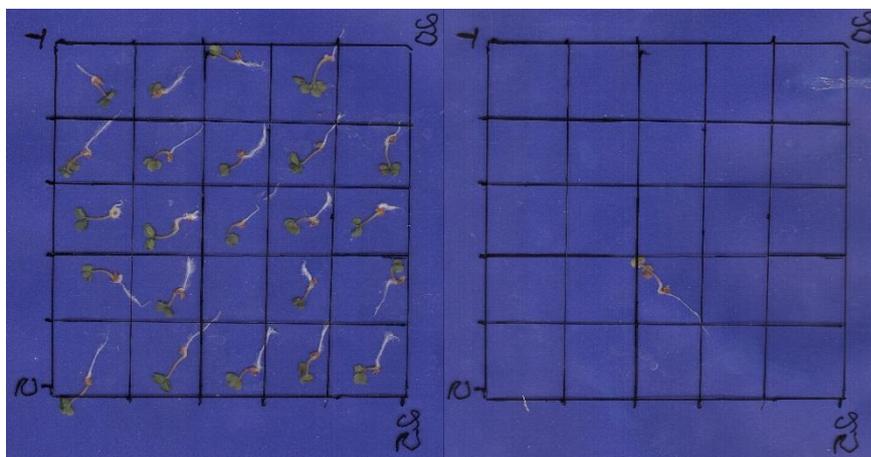


FIGURA 4 - Plântulas normais aos 4º e ao 7º dia após instalação do teste

3.3 Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

Para determinação do IVG foram realizadas contagens diárias do número de plântulas com emissão de raiz primária, até a última contagem. Ao final do teste foi calculado o índice de velocidade de germinação, empregando-se a fórmula proposta por Maguire (1962):

$$IVG=G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn.$$

Em que, IVG = Índice de velocidade de germinação; G1, G2, ...; Gn = número de semente germinadas cada dia, computadas na primeira, segunda, ..., última contagem; N1, N2, ..., Nn = número de dias da semeadura à primeira, segunda, ..., última contagem.

3.4 Desenvolvimento de plântulas (comprimento e massa de matéria seca de plântulas)

O comprimento de plântulas foi obtido ao final do teste de germinação em que os comprimentos das plântulas normais de cada repetição foram determinados com o auxílio de uma régua, fixada sobre a bancada e os resultados expressos em milímetro (mm).

Matéria seca de plântulas foi obtida ao final do teste de germinação em que as plântulas normais de cada repetição foram colocadas em saquinhos de papel e acondicionados em estufa de secagem a 65°C por 72 horas. Decorrido esse período, as amostras foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,001g e os resultados expressos em gramas (g).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo das análises de variância para os testes realizados são apresentadas na TABELA 1. Houve diferença estatística dentro do fator “estádio de maturação” em todos as características avaliadas, enquanto que, para o “período de embebição”, bem como para a interação (Maturidade e Tempo) não houve diferença estatística ($p > 0,05$). Exceto para as médias obtidas com o espectrofotômetro, que obteve interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os fatores de variação “período de embebição” e “estádio de maturação”.

TABELA 1. Quadrado médio dos testes de Germinação (G), Primeira contagem (PC), Comprimento de Plântula (CP), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Massa Seca de Plântula (MS), número de plântulas normais (PN), porcentagem de sementes viáveis pelo teste do pH do exsudado-fenolftaleína (Viab), Vigor de sementes pelo teste de pH do exsudado-fenolftaleína (Vig), Média obtida no Espectrofotometro (ESP) de semente de Rúcula (*Eruca sativa* L.) em três estádios de maturação (M), submetidas a dois períodos de embebição em água destilada (T), Montes Claros, 2021

FV	GL	G	PC	CP	IVG	MS	PN	Viab	Vig	ESP
M	2	4754,7**	9002,0**	253900,0**	22,3**	1715,3**	297,1**	208,6*	14712,0**	0,0**
T	1	6,0 ^{ns}	96,0 ^{ns}	10326,0 ^{ns}	2,7 ^{ns}	15,0 ^{ns}	0,3 ^{ns}	24,0 ^{ns}	486,0 ^{ns}	0,0 ^{ns}
M x T	2	344,0 ^{ns}	854,0 ^{ns}	3625,0 ^{ns}	3,6 ^{ns}	0,2 ^{ns}	21,5 ^{ns}	98,0 ^{ns}	536,0 ^{ns}	0,0*
Resíduo	18	260,7	296,9	9600,0	2,0	51,1	16,2	61,7	236,7	0,0
Total	23									

** = significativo a 1%; * = significativo a 5%; ^{ns} = não significativo.

As médias das características avaliadas diferiram significativamente ($P < 0,05$), sendo que as sementes no estágio de maturação “Imatura” apresentaram as menores médias, exceto para a porcentagem de sementes viáveis pelo teste do pH do exsudado-fenolftaleína, cuja as médias não diferiram entre si (TABELA 02). Contudo, as médias obtidas nos estádios de maturação intermediária e madura diferiram apenas no vigor de sementes pelo teste de pH do exsudado-fenolftaleína (pH Vig), onde as sementes maduras apresentou a maior média (87,5%), seguida das intermediárias (30,5%).

TABELA 2. Valores médios do índice de velocidade de germinação (IVG), primeira contagem de germinação (1ª Cont.), germinação (Germ.), porcentagem de sementes viáveis pelo teste do pH do exsudado-fenolftaleína (Viab), porcentagem de vigor de sementes pelo teste de pH do exsudado-fenolftaleína (Vig), comprimento de plântula (CP) e massa seca de plântulas (MS) de semente de Rúcula (*Eruca sativa* L.) em estádios de maturação. Montes Claros-MG, 2021

Estádio de maturação	IVG (Índice)	1ª Cont. (%)	Germ. (%)	Viab. (%)	Vig (%)	CP (mm)	MS (g)
Imatura	9,385 b	36,000 b	53,500 b	89,000 a	3,500 c	218,195 b	9,875 b
Intermediária	12,438a	99,500 a	99,500 a	90,500 a	30,500 b	560,214 a	37,000 a
Madura	12,094 a	86,500 a	90,500 a	98,500a	87,500 a	475,690 a	33,000 a
CV (%)	12,710	23,280	19,890	8,480	37,990	23,440	26,870

Letras minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

A colheita antecipada em relação à época de maturidade (imaturas), ocasiona deficiência no desempenho das sementes, interferindo na qualidade fisiológica, por ainda não estarem formadas, havendo menor acúmulo de massa seca, acarretando em sementes de baixo vigor (MARCOS-FILHO, 2015; FELICETI *et al.*, 2020). Sementes imaturas podem até iniciar os processos fisiológicos germinativos quando úmidas, porém em menor proporção se comparadas as demais fases de desenvolvimento (LORENZETTI *et al.*, 2018).

Em relação ao período de embebição, as médias obtidas nos testes não diferiram, sendo que no período de 30 e 60 minutos de embebição em água destilada as médias foram estatisticamente iguais ($p > 0,05$) (TABELA 03).

TABELA 3. Valores médios do índice de velocidade de germinação (IVG), primeira contagem de germinação (1ª Cont.), germinação (Germ.), porcentagem de sementes viáveis pelo teste do pH do exsudado-fenolftaleína (pH Viab), porcentagem de vigor de sementes pelo teste de pH do exsudado-fenolftaleína (pH Vigor), comprimento de plântula (CP) e massa seca de plântulas (MS) de sementes de Rúcula (*Eruca sativa* L.) sobre dois períodos de tempos de embebição em água destilada. Montes Claros-MG, 2021

Período de embebição (minutos)	IVG (Índice)	1ª Cont. (%)	Germ. (%)	pH Viab. (%)	pH Vigor (%)	Comp. (mm)	MS (g)
30	11,646 a	76,000 a	80,667 a	93,667 a	36,000 a	397,291 a	25,833 a
60	10,965 a	72,000 a	81,667 a	91,667 a	45,000 a	438,775 a	27,417 a
CV (%)	12,710	23,280	19,890	8,480	37,990	23,440	26,870

Letras minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

Utilizando a espectrofotometria foi possível observar diferença estatística ($p \leq 0,05$) para os fatores de variação “estádio de maturação” bem como a interação deste com o fator “período de embebição” (TABELA 04). Sementes “imaturas” obtiveram as menores médias nos dois períodos de embebição, enquanto que as sementes “intermediárias” e as “maduras” não diferiram dentro dos períodos de embebição.

TABELA 4. Valores médios de espectrofotometria (nm) da solução de sementes de Rúcula (*Eruca sativa* L.) em três diferentes estádios de maturação, submetidos a diferentes períodos de embebição em água destilada, segundo o teste de pH do exsudado-fenolftaleína, Montes Claros-MG, 2021

Período de embebição (minutos)	Estádio de maturação		
	Imatura	Intermediária	Madura
30	0,041 Ba	0,083 Aa	0,072 Aa
60	0,008 Bb	0,079 Aa	0,082 Aa
CV (%)	21,300		

Letras Maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Períodos de embebição das sementes em água destilada, inferior a 30 minutos poderia subestimar o vigor das espécies analisadas através do teste pH exsudato-fenolftaleína. Santos *et al.* (2019) analisando lotes de sementes de arroz (*O. sativa*), observaram que, para o tempo de 20 minutos de embebição, os lotes 1, 4 e 5 apresentaram maior nível de vigor, sendo que para os períodos de embebição acima de 40 minutos, os lotes 1, 2, 4 e 5 foram classificados como de alto vigor. Além disso, períodos de embebição superiores a 30 minutos tendem a não alterar os resultados do teste, Alves *et al.* (2016) avaliando o vigor de lotes de sementes de *Crambe abyssinica* Hochst (Brassicaceae) através do teste do pH de exsudato-fenolftaleína não observou diferença estatística em 30 ou 45 minutos de embebição.

As correlações de Pearson são apresentadas na tabela 05, a porcentagem de sementes viáveis e o vigor de sementes pela avaliação visual do teste pH exsudato-fenolftaleína não apresentaram correlação significativa com nenhum outro teste ($p > 0,05$). Entre tanto, a espectrofotometria da solução pH exsudato-fenolftaleína correlaciona ($p \leq 0,05$) com todos os testes de qualidade fisiológica e vigor (TABELA 05).

TABELA 5. Correlação simples de Pearson entre os testes de caracterização: índice de velocidade de germinação (IVG), primeira contagem de germinação (PC), germinação (G), porcentagem de sementes viáveis pelo teste do pH do exsudado-fenolftaleína (pH Viab), porcentagem de vigor de sementes pelo teste de pH do exsudado-fenolftaleína (pH Vigor), comprimento de plântula (CP), massa seca de plântulas (MS) e a espectrofotometria (ESP.) de sementes de Rúcula (*Eruca sativa* L.), em três estádios de maturação, submetidas a dois períodos de embebição em água destilada, Montes Claros, 2021

Variáveis	IVG	PC	G	pH Viab.	pH Vigor	CP	MS	ESP.
IVG	1	0,977**	0,946**	0,640 ^{ns}	-0,001 ^{ns}	0,840*	0,888**	0,994**
PC		1	0,992**	0,524 ^{ns}	-0,042 ^{ns}	0,928**	0,946**	0,987**
G			1	0,485 ^{ns}	-0,008 ^{ns}	0,961**	0,964**	0,969**
pH Viab.				1	0,586 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,402 ^{ns}	0,637 ^{ns}
pH Vigor					1	-0,004 ^{ns}	0,070 ^{ns}	0,056 ^{ns}
CP						1	0,983**	0,880*
MS							1	0,919**
ESP								1

** = significativo a 1%; * = significativo a 5%; ^{ns} = não significativo.

Esses resultados demonstram a importância de se analisar o pH do exsudato-fenolftaleína através da espectrofotometria a fim de detectar a eficiência, sensibilidade e confiabilidade dos testes utilizados. Apesar de significativos ($p \leq 0,05$) as avaliações visuais não correlacionaram com os outros testes fisiológicos, o que demonstra a sensibilidade do teste a subjetividade durante a avaliação. Estudos comparativos entre análise visual e

espectrofotometria ainda são escassos, mas devem ser utilizados para aperfeiçoar a análise visual do teste.

5 CONCLUSÃO

O teste do pH exsudato-fenolftaleína com 30 minutos de embebição em água destilada foi capaz de verificar o vigor de sementes de rúcula. Devido a subjetividade da análise visual a espectrofotometria é uma ferramenta para a validação do teste. Estudos futuros podem aperfeiçoar a análise visual, através de paleta de cores, por exemplo.

REFERÊNCIAS

ALVES, C.Z.; SÁ, M.E. Teste de condutividade elétrica na avaliação do vigor de sementes de rúcula. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 203-215, jan. 2009.

ALVES, C.Z.; GODOY, A.R.; CANDIDO, A.C. da S.; DE SÁ, M.E.; Qualidade fisiológica de sementes de *Eruca sativa* L. pelo teste de deterioração controlada. **Ciência Rural [online]**, v. 41, n. 12, p. 2090-2095, dez. 2011.

AMARAL, A.S.; PESKE, S.T. pH do exsudato para estimar, em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 6, n. 3, p. 85-92, jan. 1984.

AOSA. ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Contribution to the Handbook on Seed Testing, 1983. p.32.

ARALDI, C.G.; COELHO, C.M.M. pH do Exsudato na Avaliação da Viabilidade de Sementes de *Araucaria angustifolia*. **Floresta e Ambiente [online]**, v. 22, n. 3, p. 426-433, jul./set. 2015.

ARAÚJO, A.V.; SILVA, M.A.D.; AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE *Encholirium spectabile* Mart. ex Schult. & Schult. f. 1. **Ciência Florestal**, v. 28, p. 56-66, jan. 2018.

ARAÚJO, A. da S.; DA SILVA, D.J.; SILVA, A.V. de S.; DA SILVA, A.T.; DE LIRA, A.C.B.; DE BARROS, R.P. Potencial germinativo de sementes de rúcula (*Eruca sativa* L., Brassicaceae) em diferentes substrato. **Diversitas Journal**, v. 5, n. 3, p. 1495-1503, jul./set. 2020.

BARBIERI, A.P.P.; MENEZES, N.L.; CONCEIÇÃO, G.M.; TUNES, L.M. Teste de lixiviação de potássio para a avaliação do vigor de sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 1, p. 117-124, jan. 2012.

BARREIROS, I.T.; OLIVEIRA, V.F.A.; MINUZZI, S.B.; ROVER, S.; SUZUKI, V.M.; BARCELOS-OLIVEIRA, J.L. Temperatura Basal Inferior e Soma Térmica da Rúcula em Sistemas de Produção Convencional e Hidropônico. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 36, n. 1, p. 107-113, jun. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

CRIVELARI, A.D.; CORREA, J.S.; SILVA, C.P. Desenvolvimento de mudas de alface e rúcula tratadas com biofertilizante de extrato de algas. **Científic@-Multidisciplinary Journal**, v. 8, n. 1, p. 1-10, jan. 2021.

FREITAS, R.M.O.; NOGUEIRA, N.W.; TORRES, S.B.; LEITE, T.S. Accelerated aging of arugula seeds. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 13, n. 4, p. 1-6, jan. 2018.

HARDER, W.C.; ZÁRATE, N.A.H.; VIEIRA, M. do C. Yield and gross income of 'Cultivada' roquette (*Eruca sativa* Mill) and 'Amarelo' chicory (*Cichorium intybus* L.) in mono-cropping and intercropping system. **Ciência e agrotecnologia**, v. 29, n. 4, p. 775-785, ago. 2005.

IBGE – Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística (2017). Censo agropecuário 2017. Rio de Janeiro: IBGE

LEAL, C.C.P.; TORRES, S.B.; NOGUEIRA, N.W.; TOMCZAK, V.E.; BENEDITO, C.P. Validação de testes de vigor para sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 3, p. 421-424, set. 2012.

LOPES, M. de M.; SILVA, C.B.; VIEIRA, R.D. Physiological potential of eggplant seeds. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 2, pp. 225-230, jun. 2013.

LORENZETTI, E.; CARVALHO, J.C.; SOUZA, A.K.P.; QUEIROZ, S.B.; BELMONTE, C.; MALAVASI, M.M. Determinação da maturidade fisiológica de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. pela coloração de sementes. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 17, n. 2, p. 231-235, jan. 2018.

MARCOS-FILHO, J.; KIKUTI, A.L.P.; LIMA, L.B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 102-112, jan. 2009.

MATERA, T.C.; SUZUKAWA, A.K. Accelerated aging test and its relationship to physiological potential of soybean seeds. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 3, p. 301-308, set. 2019.

MAGUIRE, J.D. Speed of Germination—Aid In Selection And Evaluation for Seedling Emergence And Vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176, jan. 1962.

MENDONÇA, E.A.F.; RAMOS, N.P.; FESSEL, S. APARECIDA. Adequação da metodologia do teste de deterioração controlada para sementes de brócolis (*Brassica oleracea* L. - var. itálica). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p. 18-24, jun. 2004.

MORAIS, C.S.B.; ROSSETTO, C.A.V. Testes de deterioração controlada e envelhecimento acelerado para avaliação do vigor em nabo forrageiro. **Revista Ciência Agronômica [online]**, v. 44, n. 4, p. 703-713, out./dez. 2013.

OLIVEIRA, E. Q.; SOUZA, R.J.; CRUZ, M. C. M.; MARQUES, V. B.; FRANÇA, A. C. Produtividade de alface e rúcula, em sistema consorciado, sob adubação orgânica e mineral. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 36-40, jan./mar. 2010.

PÊGO, R.G.; NUNES, U.R.; MASSAD, M.D. Qualidade fisiológica de sementes e desempenho de plantas de rúcula no campo. **Ciência Rural [online]**, v. 41, n. 8, p. 1341-1346, Ago 2011.

POWELL, A.A.; MATTHEWS, S. Evaluation of controlled deterioration: a new vigour test for small seeds vegetables. **Seed Science and Technology**, v.9, n.2, p.633-640, jan. 1981.

RAMOS, K.M.O.; MATOS, J.M.M.; MARTINS, R.C.C.; MARTINS, I.S. Electrical Conductivity Testing as Applied to the Assessment of Freshly Collected *Kielmeyera coriacea* Mart. Seeds. **ISRN Agronomy**, v. 2012, n. 1, p. 1-5, jan. 2012.

REIS, L.S.; ARAÚJO, E.F.; DIAS, D.C.F.S.; SEDIYAMA, C.S.; MEIRELES, R.C. LERCAFÉ: novo teste para estimar o potencial germinativo de sementes de cafeeiro (*Coffea Arabica* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 9-16, jan. 2010.

SANTANA, D.C.; Vieira, M.G.G.C.; Carvalho, M.L.M.; OLIVEIRA, M.D.; Teste do pH do exsudato-fenolftaleína para rápida definição sobre o destino de lotes de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 1, 160-166.

SANTOS, M.D.A.D.; OLIVEIRA, I.C.D.; NOGUEIRA, G.A.; SILVA, J.B.D.; CANDIDO, A.C.D.S.; ALVES, C.Z. Test of exudate pH in rice seeds. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 4, p. 960 – 965, out./dez. 2019.

SOUTO, P.C.; GONÇALVES, E.P.; VIANA, J.S.; SILVA, J.C.A.; FERREIRA, D.T.R.G.; RALPH, L.N. Exudate - phenolphthalein pH test for evaluation of validity in seeds of *Libidibia ferrea*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 04, p. 1-10, jan. 2019.

STEINER, F.; PINTO JUNIOR, A.S.; DRANSKI, J.AL.; ZOZ, T.; RHEINHEIMER, A.R. Germinação de sementes de rúcula sob diferentes temperaturas. **Scientia Agraria**, v. 11, n. 2, p. 119-124, mar./abr. 2010.

STEINER, F.; PIVETTA, L.A.; CASTOLDI, G.; PIVETTA, L.G.; FIOREZE, S. Produção de rúcula e acúmulo de nitrato em função da adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.2, p.230-235, mar. 2011.

SHARMA, M.M.; DHINGRA, M.; DAVE, A.; BATRA, A. Plant regeneration and stimulation of in vitro flowering in *Eruca sativa* Mill. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 31, p. 7906-7911, abr. 2012.

THEODORO, J.V.C.; CARDOSO, F.B.; REGO, C.H.Q.; CÂNDIDO, A.C.D.S.; ALVES, C.Z. Exudate ph and flooding tests to evaluate the physiological quality of soybean seeds. **Revista Caatinga**, v. 31, n. 3, p. 667-673, jul./set. 2018.

TORRES, S.B.; PAIVA, E.P.; ALMEIDA, J.P.N.; BENEDITO, C.P.; CARVALHO, S.M.C. Teste de condutividade elétrica na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de coentro. **Revista Ciência Agronômica [online]**, v. 46, n. 3, p. 622-629, jul./set. 2015.

WILSON, L.; AZARENKO, O.; JORDAN, M. A. Erucin, the major isothiocyanate in arugula (*Eruca sativa* M.), inhibits proliferation of MCF7 tumor cells by suppressing microtubule dynamics. **PloS one**, v. 9, n. 6, jan. 2014.