

## TESTES DE LIXIVIAÇÃO DE ÍONS INORGÂNICOS E CONDUTIVIDADE ELÉTRICA PARA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE CEBOLA

### INORGANIC IONS LEAKAGE AND ELECTRICAL CONDUCTIVITY TESTS FOR THE EVALUATION OF ONION SEED PHYSIOLOGICAL QUALITY

CAROLINE JÁCOME COSTA<sup>1</sup>, LEDEMAR CARLOS VAHL<sup>1</sup>, FRANCISCO AMARAL VILLELA<sup>1</sup>

#### RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo verificar a adequação dos testes de lixiviação de potássio, cálcio e magnésio e do teste de condutividade elétrica, conduzido por períodos de imersão das sementes inferiores a 24 horas, para avaliação do potencial fisiológico de sementes de cebola. Foram utilizados cinco lotes de sementes de cebola, cultivar Bola Precoce, caracterizados através dos testes de germinação, emergência de plântulas em casa de vegetação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica. Os testes de lixiviação de potássio, cálcio e magnésio foram realizados empregando quatro repetições de 50 sementes de cada lote, imersas em 25 mL de água deionizada, a 20 °C, por períodos de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos. Após cada período, realizou-se a leitura dos teores de potássio através de espectrofotometria de chama e de cálcio e magnésio, por espectrofotometria de absorção atômica. O teste de lixiviação de potássio, conduzido com 50 sementes imersas por 150 minutos em 25 mL de água deionizada, a 20 °C, é eficiente na classificação de lotes de sementes de cebola quanto ao potencial fisiológico. Os testes de lixiviação de cálcio e magnésio e condutividade elétrica nos períodos de imersão de 30 a 180 minutos não são sensíveis em detectar diferenças de vigor entre lotes de sementes de cebola.

*Palavras-chave:* *Allium cepa L.*, permeabilidade da membrana celular, vigor, lixiviação de potássio.

#### ABSTRACT

The objective of the present study was to verify the adaptation of potassium, calcium and magnesium leakage and electrical conductivity tests for the evaluation of the physiological quality of onion seeds. Five onion seed lots characterized through germination, seedling emergence, accelerated aging and electrical conductivity tests were used. The potassium, calcium and magnesium leakage tests were accomplished using four repetitions of 50 seeds of each lot immersed in 25 mL of water at 20 °C for periods of 30, 60, 90, 120, 150 and 180 minutes. The potassium leakage test driven with 50 seeds immersed in 25 mL of deionized water at 20 °C for 150 minutes is efficient in the classification of onion seed lots regarding physiological quality. The calcium and magnesium leakage tests and the electrical conductivity test, driven with seeds immersed for 30 to

180 minutes, are not sensitive in detecting vigor differences among the lots.

*Key words:* *Allium cepa L.*, permeability of the cellular membrane, vigor, potassium leakage.

#### INTRODUÇÃO

O aprimoramento de testes que permitam a avaliação rápida e precisa do potencial fisiológico de sementes reveste-se de grande importância para a cadeia produtiva, por subsidiar a tomada de decisões em fases críticas da produção.

Testes de vigor sensíveis às alterações bioquímicas e/ou metabólicas primárias, que ocorrem durante a deterioração das sementes, são úteis na estimativa do desempenho das mesmas no campo e do seu potencial de armazenamento.

Nesse sentido, a desestruturação do sistema de membranas celulares tem sido relatada como uma das principais consequências da deterioração de sementes (ABDUL-BAKI & BAKER, 1973; DIAS & MARCOS FILHO, 1995a,b; MCDONALD, 1999). Dessa forma, testes de vigor com potencial de avaliação do grau de desestruturação do sistema de membranas podem auxiliar eficientemente no controle de qualidade dos lotes de sementes.

O teste de condutividade elétrica, baseado indiretamente no grau de desestruturação das membranas celulares através da liberação de eletrólitos durante a imersão das sementes em água, tem se mostrado eficiente na classificação de lotes de sementes quanto ao potencial fisiológico e apresentado alta correlação com a emergência das plântulas em campo. Pela facilidade de padronização, o teste vem sendo recomendado para avaliação do vigor de sementes de ervilha (*Pisum sativum L.*) pela ISTA, com potencial de utilização para várias espécies (HAMPTON & TEKRONY, 1995; VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

Tradicionalmente, o teste vem sendo executado através da avaliação da condutividade elétrica da água de imersão das sementes após 24 horas de exposição (DIAS & MARCOS

(Recebido para Publicação em 04/10/2005, Aprovado em 10/12/2007)

FILHO, 1996; VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999; MARCHI & CÍCERO, 2002). Todavia, relatos destacam que alguns íons inorgânicos são lixiviados nas primeiras horas de imersão, notadamente o potássio (SIMON & MATHAVAN, 1986; DIAS & MARCOS FILHO, 1995b; ASHRAF et al., 2001). Espécies que possuem sementes pequenas, como aipo, alface e cenoura, apresentam cerca de 90% de lixiviação de potássio nos primeiros 15 minutos de imersão em água (SIMON & MATHAVAN, 1986). Dessa forma, a possibilidade de obtenção de resultados mais rápidos, sem perder a precisão do teste de condutividade elétrica, toma o teste de lixiviação de potássio uma alternativa promissora para os programas de controle de qualidade de sementes. O teste tem se mostrado eficiente para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja (CUSTÓDIO & MARCOS FILHO, 1997), tomate (PANOBIANCO & MARCOS FILHO, 2001), milho (MIGUEL & MARCOS FILHO, 2002) e amendoim (VANZOLINI & NAKAGAWA, 2003).

Dessa forma, objetivou-se, no presente trabalho, verificar a adequação dos testes de lixiviação de potássio, cálcio e magnésio e do teste de condutividade elétrica, conduzido por períodos de imersão das sementes inferiores a 24 horas, para avaliação do potencial fisiológico de sementes de cebola.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia e no Laboratório de Solos da Universidade Federal de Pelotas, utilizando cinco lotes de sementes não tratadas de cebola, cultivar Bola Precoce.

Os lotes de sementes foram mantidos em câmara fria e seca (temperatura de 10 °C e umidade relativa de 40 %) durante o período de condução dos testes.

Os lotes foram caracterizados quanto ao potencial fisiológico através dos seguintes testes:

**Teste de germinação:** 16 subamostras de 50 sementes de cada lote foram semeadas sobre duas folhas de papel de filtro umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes a sua massa, colocadas no interior de caixas plásticas tipo gerbox. As caixas gerbox foram fechadas e mantidas em germinador regulado à temperatura de 20 °C,

sendo as avaliações realizadas aos 6 e 12 dias, conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

**Teste de emergência das plântulas em casa de vegetação:** empregaram-se bandejas de poliestireno expandido de 200 células contendo substrato artificial (Plantmax<sup>®</sup>) e uma semente por célula, com contagens diárias da percentagem de plântulas normais até o décimo dia e utilizando 200 sementes para cada lote, subdivididas em quatro subamostras.

**Teste de envelhecimento acelerado:** 400 sementes de cada lote foram distribuídas sobre telas de alumínio, fixadas no interior de caixas plásticas tipo gerbox contendo 40 mL de água destilada. As caixas foram fechadas e mantidas em câmara BOD a 42 °C por 72 horas. Após esse período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação conforme descrito na seção anterior, realizando-se a avaliação no sexto dia após a instalação do teste.

**Teste de condutividade elétrica:** quatro subamostras de 50 sementes de cada lote foram pesadas, colocadas em copos plásticos contendo 25 mL de água deionizada e mantidas a 20 °C durante 24 horas. A condutividade elétrica das soluções foi determinada após 30, 60, 90, 120, 150, 180 minutos e 24 horas de imersão das sementes, utilizando um condutímetro. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  de sementes.

**Testes de lixiviação de potássio, cálcio e magnésio:** para cada um dos testes, foram empregadas quatro subamostras de 50 sementes de cada lote. As sementes foram pesadas, colocadas em copos plásticos contendo 25 mL de água deionizada e mantidas a 20 °C durante 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos. Após cada um dos períodos, os teores de potássio, cálcio e magnésio das soluções foram determinados. Para a determinação dos teores de potássio, utilizou-se um espectrofotômetro de chama e os teores de cálcio e magnésio foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica. Os teores de potássio, cálcio e magnésio foram expressos em  $\text{mg L}^{-1} \text{g}^{-1}$  de sementes.

**Procedimento experimental:** o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, composto por cinco lotes, com quatro repetições, sendo as médias dos resultados obtidos comparadas pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade. As análises estatísticas foram executadas

através do Sistema de análise estatística para microcomputadores - SANEST (ZONTA & MACHADO, 1986).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que, dos testes empregados para caracterização do potencial fisiológico dos lotes de sementes de cebola, apenas o teste de condutividade elétrica, com 24 horas de imersão das sementes, apresentou potencial em classificar os lotes em diferentes níveis de vigor, possibilitando a separação entre lotes de maior (lotes 1 e 4) e menor (lotes 2 e 3) potencial fisiológico (Tabela 1). Avaliando

a eficiência relativa entre testes para determinação do potencial fisiológico de sementes de cebola, TORRES (1998) também considerou o teste de condutividade elétrica promissor para essa finalidade. Os testes de germinação, emergência das plântulas em casa de vegetação e envelhecimento acelerado não mostraram diferenças entre o potencial fisiológico dos lotes. No caso do teste de emergência das plântulas em casa de vegetação, é provável que tenham prevalecido condições favoráveis ao desenvolvimento das plântulas no período de execução do teste, não possibilitando que diferenças de vigor entre os lotes de sementes se evidenciassem.

TABELA 1 - Caracterização de cinco lotes de sementes de cebola através da germinação, emergência das plântulas em casa de vegetação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica. Pelotas, RS, 2005.

LOTES	Germinação (%)	Emergência (%)	Envelhecimento acelerado (%)	Condutividade elétrica ( $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ )
1	82 a	79 a	33 a	335,15 a
2	78 a	76 a	25 a	370,85 b
3	82 a	80 a	32 a	378,05 b
4	80 a	79 a	38 a	336,05 a
5	82 a	78 a	32 a	357,02 ab
CV (%)	4,4	5,8	5,3	3,4

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

Os dados obtidos para a lixiviação de potássio, cálcio e magnésio estão apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4, respectivamente. Os valores de lixiviação de potássio (Tabela 2), observados após 150 minutos de imersão das sementes em água, possibilitaram a classificação dos lotes em níveis de vigor semelhante àquela obtida no teste de condutividade elétrica, evidenciando diferenças entre lotes de maior (lote 1), menor (lotes 2 e 3) e lotes de potencial fisiológico intermediário (lotes 4 e 5). Observou-se que, nos períodos iniciais de imersão das sementes em água (30 e 90 minutos), não foi possível distinguir diferenças entre o potencial fisiológico dos lotes. Isso pode ser conseqüência da rápida absorção de água pelas sementes inicialmente secas, levando a um estado transitório de desorganização do sistema de membranas celulares, o que provoca a perda de sua capacidade seletiva e conseqüente liberação de solutos

para o meio, independentemente do estado de deterioração das sementes (HOEKSTRA et al., 1999; BRYANT et al., 2001). À medida que as membranas celulares vão sendo reorganizadas e reparadas, o que ocorre mais eficientemente nas sementes de maior potencial fisiológico, é possível, através da avaliação da concentração de eletrólitos lixiviados, estabelecer diferenças entre o potencial fisiológico dos lotes de sementes. No presente trabalho, observou-se que, após 150 minutos de imersão das sementes em água, foi possível diferenciar lotes de sementes de cebola quanto ao potencial fisiológico, baseado na lixiviação de potássio. Da mesma forma, SACANDÉ et al. (2001), trabalhando com sementes de neem (*Azadirachta indica*), associaram a perda de viabilidade das sementes com o aumento da lixiviação de potássio e maior incidência de células apresentando danos na membrana plasmática.

TABELA 2 - Teor de potássio ( $K^+$ ) na solução de imersão de sementes de cebola após 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos. Pelotas, RS, 2005.

LOTES	Período de imersão (minutos)					
	30	60	90	120	150	180
	----- mg L <sup>-1</sup> K <sup>+</sup> g <sup>-1</sup> sementes -----					
1	18,42 a	22,22 a	25,43 a	28,98 a	30,09 a	34,44 a
2	22,49 a	22,18 a	27,37 a	29,83 a	37,34 b	36,83 ab
3	21,72 a	27,53 b	29,41 a	36,02 b	36,89 b	41,13 b
4	18,58 a	24,82 ab	25,71 a	31,37 a	32,20 ab	33,43 a
5	20,35 a	27,06 b	28,96 a	32,38 ab	34,39 ab	34,66 a
CV (%)	10,8	8,5	10,6	5,6	7,9	6,7

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

Os testes de lixiviação de cálcio e magnésio, de forma geral, não foram sensíveis em detectar diferenças entre o potencial fisiológico dos lotes (Tabelas 3 e 4). Nos períodos de tempo nos quais a separação entre os lotes foi possível, esta foi inconsistente e não confirmada pelos demais testes empregados (Tabela 1). O teste de lixiviação de cálcio também não foi considerado adequado para avaliar o potencial fisiológico de sementes de amendoim por VANZOLINI & NAKAGAWA (2003). Da mesma forma, o teste

de condutividade elétrica, realizado por períodos de imersão das sementes inferiores a 24 horas, não foi adequado para avaliar o potencial fisiológico dos lotes (Tabela 5). É provável que, em razão da menor sensibilidade do teste, comparativamente ao teste de lixiviação de potássio, as sementes necessitem estar expostas a mais tempo de imersão para que as diferenças entre seu potencial fisiológico possam se evidenciar.

TABELA 3 - Teor de cálcio ( $Ca^{++}$ ) na solução de imersão de sementes de cebola após 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos. Pelotas, RS, 2005.

LOTES	Período de imersão (minutos)					
	30	60	90	120	150	180
	----- mg L <sup>-1</sup> Ca <sup>++</sup> g <sup>-1</sup> sementes -----					
1	24,53 ab	5,00 a	6,56 a	25,38 a	28,21 a	22,19 a
2	17,33 a	4,84 a	4,89 a	20,52 a	22,27 a	25,67 a
3	26,52 ab	8,66 a	6,39 a	26,81 a	22,65 a	22,87 a
4	28,26 b	6,54 a	7,65 a	24,69 a	22,75 a	28,13 a
5	27,42 ab	5,37 a	4,65 a	23,62 a	24,87 a	22,63 a
CV (%)	19,8	35,7	28,3	21,4	17,3	28,0

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

TABELA 4 - Teor de magnésio ( $Mg^{++}$ ) na solução de imersão de sementes de cebola após 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos. Pelotas, RS, 2005.

LOTES	Período de imersão (minutos)					
	30	60	90	120	150	180
	----- mg L <sup>-1</sup> Mg <sup>++</sup> g <sup>-1</sup> sementes -----					
1	5,04 a	2,74 a	2,42 ab	4,65 ab	4,14 a	4,74 a
2	4,22 a	2,35 a	2,85 ab	3,44 a	3,99 a	3,99 a
3	4,65 a	3,49 a	2,45 ab	6,16 b	4,25 a	4,44 a
4	3,87 a	2,67 a	2,92 b	3,97 a	5,06 a	4,48 a
5	3,81 a	2,63 a	1,92 a	2,81 a	3,90 a	3,57 a
CV (%)	13,9	23,3	17,2	23,2	28,0	16,3

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

TABELA 5 - Condutividade elétrica da solução de imersão de sementes de cebola após 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos. Pelotas, RS, 2005.

LOTES	Período de imersão (minutos)					
	30	60	90	120	150	180
	----- Condutividade elétrica ( $\mu S \cdot cm^{-1} \cdot g^{-1}$ ) -----					
1	61,87 a	87,87 a	97,07 a	103,30 a	117,27 a	131,32 a
2	76,65 b	79,10 a	104,10 a	103,97 a	128,00 a	126,70 a
3	75,50 ab	99,82 a	99,70 a	113,07 ab	128,12 a	146,12 a
4	68,37 ab	92,40 a	98,32 a	115,52 ab	114,20 a	118,37 a
5	72,12 ab	101,80 a	101,52 a	123,87 b	119,72 a	118,85 a
CV (%)	9,4	14,7	11,0	5,3	11,1	10,7

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

Vale ressaltar que o teor de potássio presente na água de imersão das sementes, além de ter sido superior aos teores de cálcio e magnésio, em todos os períodos avaliados, mostrou-se crescente ao longo do período de execução do teste.

O decréscimo observado nos teores de cálcio e magnésio nos períodos de 60 e 90 minutos de imersão das sementes em água não foi acompanhado de reduções equivalentes nas leituras de condutividade elétrica da água de imersão.

Além disso, verificou-se que o teste de lixiviação de potássio, que está baseado em princípio semelhante ao do teste de condutividade elétrica, também mostrou eficiência similar na separação de lotes de sementes de cebola, após imersão em água por 150 minutos. Isso possibilita a utilização do teste de lixiviação de potássio para avaliação do potencial fisiológico

de sementes de cebola com a obtenção de resultados tão precisos quanto os obtidos pelo teste de condutividade elétrica, com a vantagem de requerer menor tempo de execução.

#### CONCLUSÕES

O teste de lixiviação de potássio, conduzido com 50 sementes imersas por 150 minutos em 25 mL de água deionizada, a 20°C, é eficiente na separação de lotes de sementes de cebola quanto ao potencial fisiológico.

Os testes de lixiviação de cálcio e magnésio e condutividade elétrica nos períodos de imersão de 30 a 180 minutos não são sensíveis em detectar diferenças de vigor entre lotes de sementes de cebola.

COSTA et al. Testes de lixiviação de íons inorgânicos e condutividade elétrica para avaliação do potencial fisiológico de sementes...

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-BAKI, A. A.; BAKER, J. E. Are change in cellular organelles or membranes related to vigor loss in seed? *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 1, p. 89-125, 1973.

ASHRAF, M.; NASIM, F. H.; HUSSAIN, M. M. Efflux of inorganic ions in leachates of wheat seeds. *Journal of Biological Sciences*, v. 1, n. 1, p. 1-3, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

BRYANT, G.; KOSTER, K. L.; WOLFE, J. Membrane behaviour in seeds and other systems at low water content: the various effects of solutes. *Seed Science Research*, Wallingford, v. 11, p. 17-25, 2001.

CUSTÓDIO, C. C.; MARCOS FILHO, J. Potassium leakage test for the evaluation of soybean seed physiological quality. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 25, n. 3, p. 549-564, 1997.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Testes de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill.) *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 53, n. 1, p. 31-42, 1996.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Testes de vigor baseados na permeabilidade das membranas celulares: I. Condutividade elétrica. *Informativo ABRATES*, Londrina, v. 5, n. 1, 1995a.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Testes de vigor baseados na permeabilidade das membranas celulares: II. Lixiviação de potássio. *Informativo ABRATES*, Londrina, v. 5, n. 1, 1995b.

HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. *Handbook of vigour test methods*. 3 ed. Zürich: ISTA, 1995. 117 p.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; VAN AELST, A. C.; HEMMINGA, M.A. Imbibitional leakage from anhydrobiotes revisited. *Plant, Cell and Environment*, Rockville, v. 22, p. 1121-1131, 1999.

MARCHI, J. L.; CÍCERO, S. M. Procedimentos para a condução do teste de condutividade elétrica em sementes. *Informativo ABRATES*, Londrina, v. 12, n. 1/2/3, p. 20-27, 2002.

McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 27, p. 177-237, 1999.

MIGUEL, M. V. C.; MARCOS FILHO, J. Potassium leakage and maize physiological potential. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 315-319, 2002.

PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Evaluation of the physiological potential of tomato seeds by germination and vigor tests. *Seed Technology*, Kentucky, v. 23, p. 149-159, 2001.

SACANDÉ, M.; GOLOVINA, E. A.; VAN AELST, A. C.; HOEKSTRA, F.A. Viability loss of neem (*Azadirachta indica*) seeds associated with membrane phase behaviour. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 52, n. 358, p. 919-931, 2001.

SIMON, E. W.; MATHAVAN, S. The time course of leakage from imbibing seeds of different species. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 14, n. 1, p. 9-13, 1986.

TORRES, S.B. Comparação entre diferentes testes de vigor e a correlação com a emergência no campo de sementes de cebola. *Revista Brasileira de Sementes*, Campinas, v. 20, n. 1, p.65-69, 1998.

VANZOLINI, S.; NAKAGAWA, J. Lixiviação de potássio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de amendoim. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 25, n. 2, p. 7-12, 2003.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. F. (Ed.) *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, 1999. p. 4.1-4.26.

ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. *Sistema de análise estatística para microcomputadores - SANEST*. Pelotas: UFPel, Instituto de Física e Matemática, 1986. 150 p.