



QUALIDADE FISIOLÓGICA E SANITÁRIA DE SEMENTES DE FORRAGEIRA TRATADAS QUIMICAMENTE

Giovana Carolina Dourado Cruciol¹, Jaime Candido Lopes do Prado¹, Marli Tieme Koyanagui¹, Flávio Ferreira da Silva Binotti², Maria Luiza Nunes Costa³

¹Programa de Pós-Graduação “Stricto Sensu” em Agronomia Área de Concentração: Sustentabilidade na Agricultura, UEMS, Cassilândia - MS, Brasil, E-mail: giovanacruzol@hotmail.com;

²Prof. Adjunto, UEMS, Unidade Universitária de Cassilândia-MS, Brasil

³Profª Adjunto A, UFMS, Campus Chapadão do Sul-MS, Brasil.

Recebido em: 30/09/2014 – Aprovado em: 15/11/2014 – Publicado em: 01/12/2014

RESUMO

A *Brachiaria* spp. é a principal espécie de forrageira utilizada na implantação de pastagens no Brasil. A semente é a principal forma de transmissão de patógenos de uma área infestada para outra isenta. Outro fator preocupante em sementes de forrageiras é a dormência que pode dificultar a emergência das plântulas no campo e o estabelecimento das pastagens. O objetivo foi avaliar a presença de fungos, qualidade fisiológica de sementes de *Brachiaria humidicola* e desenvolvimento de patógeno no teste de germinação após, as sementes serem submetidas à escarificação química e assepsia superficial. O trabalho foi conduzido na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Cassilândia, utilizando o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2, constituído de escarificação química com ácido sulfúrico concentrado por 15 minutos (presença e ausência) e assepsia superficial das sementes com hipoclorito de sódio (10% a 12% de cloro ativo) na concentração de 9% por 10 minutos (presença e ausência), com cinco repetições. Avaliou-se germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, emergência, primeira contagem de emergência, índice de velocidade de emergência, condutividade elétrica, desenvolvimento de patógenos aos 7, 14 e 21 dias no teste de germinação, fitomassa verde, fitomassa seca, comprimento de raiz, comprimento de parte aérea e presença de fungos nas sementes. Recomenda-se o uso da escarificação para maior percentual de germinação, velocidade de germinação e menor desenvolvimento de patógeno no teste de germinação. Recomenda-se assepsia superficial das sementes para maior expressão do potencial fisiológico das sementes. Na ausência da escarificação química deve realizar a assepsia das sementes para o controle de *Bipolaris* sp.

PALAVRAS-CHAVE: *Brachiaria humidicola*, escarificação química, patógeno, potencial fisiológico, vigor

QUALITY OF HEALTH AND PHYSIOLOGICAL SEED OF FIELD AFTER CHEMICAL TREATMENT

ABSTRACT

The *Brachiaria* spp. is the main species of forage used in the establishment of pastures in Brazil. The seed is the main form of transmission of pathogens from an infested area to another free. Another worrying factor in forage seeds is the numbness that can hamper the emergence seedling emergence and establishment of pasture. The objective was to evaluate the presence of fungi, physiological seed quality of *Brachiaria humidicola*. Leaf and development of the pathogen after germination, the seeds were subjected to chemical scarification and surface disinfection. The work was conducted at the State University of Mato Grosso do Sul, University Unit Cassilândia using completely randomized in a 2x2 factorial design, consisting of chemical scarification with concentrated sulfuric acid for 15 minutes (presence or absence) and superficial disinfection of seeds with sodium hypochlorite (10% to 12% of active chlorine) at a concentration of 9% for 10 minutes (presence or absence), with five replications. We assessed germination, first count of germination, speed of germination, emergence, emergency first count, speed of emergence, electrical conductivity, development of pathogens at 7, 14 and 21 days in germination, green biomass, dry weight, root length, shoot length and presence of fungi in seeds. The use of scarification for higher germination percentage, speed of germination and development of the pathogen in lower germination test is recommended. Surface sterilization of seeds for greater expression of seed vigor is recommended. In the absence of chemical scarification should perform aseptic seeds for control of *Bipolaris* sp.

KEYWORDS: *Brachiaria humidicola*, chemical scarification, pathogen, physiological, force

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador de sementes de forrageiras (PEREIRA et al., 2011). Segundo (CYPRIANO et al., 2012), as pastagens nativas e cultivadas ocupam uma área no Brasil de 180 milhões de hectares.

A *Brachiaria* sp. é a principal espécie de forrageira utilizada na implantação de pastagens no Brasil, por ter alta produção de fitomassa que permite aos produtores aumentar a produção de carne e leite do seu rebanho (SOUZA et al., 2007). Apesar de sua grande importância, a qualidade das sementes de forrageiras as vezes não é satisfatória. Diante deste fato, o uso de sementes de baixa qualidade é causa de insucesso na formação de áreas de pastagens no país (SANTOS et al., 2010).

A semente é a principal forma de disseminação e transmissão de patógenos de uma área infestada para outra isenta. Além, de ser um agente causador de doenças nas plantas, o patógeno pode também inviabilizar a sementes, diminuindo sua qualidade fisiológica (PREVIERO et al., 1999).

Outro fator preocupante em sementes de forrageiras é a dormência. Isso pode dificultar a emergência das plântulas no campo e o estabelecimento das pastagens. Existem recomendações que em *Brachiaria humidicola* recém colhidas devem ser armazenadas por um período de seis a nove meses, ou serem escarificadas com ácido sulfúrico, antes da semeadura, como forma de superar a dormência (COSTA et al., 2011).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a presença de fungos, qualidade fisiológica de sementes de *B. humidicola* e crescimento de patógenos no teste de germinação após, as sementes serem submetidas à escarificação química e assepsia superficial.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2, constituído de escarificação química com ácido sulfúrico concentrado por 15 minutos (presença e ausência) e assepsia superficial das sementes de *Brachiaria humidicola* com hipoclorito de sódio (10% a 12% de cloro ativo) na concentração de 9% por 10 minutos (presença e ausência), com cinco repetições.

Para escarificação química, as sementes foram imersas em ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) por 15 minutos. Em seguida foram imersas em água destilada e secas sobre papel toalha em temperatura ambiente por 24 horas. Para assepsia superficial, as sementes foram imersas em hipoclorito de sódio (10% a 12% de cloro ativo) na concentração de 9% por 10 minutos, e secas sobre papel toalha em temperatura ambiente por 24 horas.

Conduziu-se os seguintes testes para aferição da qualidade fisiológica das sementes tratadas:

Teste de germinação: Realizado com cinco repetições de 50 sementes por tratamento. Foram semeadas em papel mata-borrão em caixas tipo gerbox, umedecidos com água destilada (na quantidade de 2,5 vezes a massa do substrato), e mantido em germinador de sala (temperatura de 25°C, com fotoperíodo de dezesseis horas de luz e oito horas escuro). As contagens foram realizadas aos sete e 21 dias após a semeadura, considerando sementes germinadas aquelas que produziram plântulas normais (BRASIL, 2009).

Primeira contagem de germinação: Realizada juntamente com o teste de germinação, sendo o registro da porcentagem de plântulas normais verificadas sete dias após a instalação do teste (BRASIL, 2009).

Índice de velocidade de germinação (IVG): Realizado concomitantemente teste de germinação, com avaliações diárias. O índice de velocidade para cada tratamento foi calculado segundo a fórmula proposta por MAGUIRE (1962).

Teste de condutividade elétrica: Para avaliação da condutividade elétrica da solução de embebição, foi utilizado o teste conhecido como “condutividade de massa”. Realizada por meio de cinco repetições de 50 sementes por tratamento e mensurado a massa com precisão de duas casas decimais. Foi colocada para embeber em um recipiente contendo 75 mL de água deionizada (3-5 $\mu\text{S cm}^{-1}$ de condutividade), e foi mantida em uma câmara (germinador) à temperatura de 25°C durante 24 horas. Após o período de 24 horas foi realizada a leitura da condutividade elétrica na solução de embebição por meio de condutímetro (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

Emergência de plântulas: Foi conduzido em casa de vegetação utilizando cinco repetições de 50 sementes por tratamento, com semeadura realizada a 1cm de profundidade em bandejas contendo areia esterilizada como substrato. Registrou-se a porcentagem de plântulas emergidas até estabilização da emergência das mesmas, com limite de 28 dias após a semeadura, fazendo a contagem diária, considerando-se como plântulas emergidas com comprimento da parte aérea não inferior a 20 mm.

Primeira contagem de emergência: Foi conduzido em casa de vegetação juntamente com o teste de emergência, registrando-se a porcentagem de plântulas emergidas aos 7 dias após a instalação do ensaio, considerando-se como plântulas emergidas com comprimento da parte aérea não inferior a 20 mm. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas emergidas.

Índice de velocidade de emergência (IVE): Foi conduzido em casa de vegetação juntamente com o teste de emergência de plântulas. As avaliações foram realizadas mediante a contagem diária do número de plântulas emergidas até estabilização do número das plântulas emergidas com limite de 28 dias após, a semeadura e o cálculo do índice de velocidade foi efetuado conforme MAGUIRE (1962).

Fitomassa fresca do vegetal: A fitomassa de matéria fresca foi determinada aos 28 dias após a semeadura, com a coleta dos materiais das bandejas (emergência), sendo sua fitomassa determinada por meio de uma balança de precisão e os valores foram expressos em miligramas por plântula.

Fitomassa seca do vegetal: As amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar, em temperatura média de 65°C, até atingir massa constante. Os valores foram expressos em miligramas por plântula.

Comprimento de raiz e parte aérea: Ao final do teste de emergência, a parte aérea e a raiz das plântulas de cada repetição foram medidas com auxílio de uma régua graduada em milímetros, sendo os resultados expressos em centímetros por plântula.

Sanidade de sementes: Foi realizado utilizando 100 sementes, distribuídas em caixas tipo gerbox sobre folha de papel mata-borrão umedecidos com água destilada esterilizada. Os gerbox foram dispostos em BOD em temperatura de 22°C e foram avaliados aos sete dias após a montagem do teste, a ocorrência de cada espécie fúngica presente nas sementes. Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem de sementes infectadas e/ou contaminadas, fornecendo a incidência de cada fungo patogênico nas sementes (BRASIL, 2009).

Crescimento de patógeno no teste de germinação- Foi determinada utilizando metodologia pré-definida, que consistiu na colocação de um marcador das dimensões do papel mata-borrão (substrato) com 100 marcações, na superfície do gerbox, posteriormente foi contado o número de vezes que o crescimento de patógeno coincidiu com os 100 pontos marcados no marcador. Por meio da relação do número de pontos coincidentes pelo o crescimento de patógeno e número total de pontos marcados no marcador, se obteve a porcentagem de crescimento de patógenos. Foram realizadas aos 7, 14 e 21 dias, após a semeadura.

A significância do efeito dos tratamentos foi determinada por meio do Teste F a 5%. As interações foram avaliadas por meio do Teste de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1 observa-se que a ausência de assepsia propiciou redução na fitomassa de matéria verde e seca, bem como no comprimento da parte aérea das plântulas.

A escarificação química com o ácido sulfúrico prejudicou o crescimento radicular. Esse resultado é semelhante ao relatado por FERREIRA et al. (2014) que também relatam diminuição do comprimento de raízes de plântulas de *Poincianella pyramidalis* oriundas de sementes escarificadas.

TABELA 1. Fitomassa de matéria verde, fitomassa de matéria seca, comprimento de raiz e comprimento de parte aérea de plantas de *Brachiaria humidicula* na presença e ausência de escarificação química (H₂SO₄) e assepsia superficial das sementes.

Tratamentos	Massa de matéria verde (g)	Massa de matéria seca (g)	Comprimento de raiz (cm)	Comprimento de parte aérea (cm)
<i>Escarificação química (H₂SO₄)</i>				
Presença	^M 0,496 a	0,085 a	6,13 b	2,85 a
Ausência	0,448 a	0,086 a	8,22 a	2,69 a
<i>Assepsia das sementes</i>				
Presença	0,645 a	0,106 a	7,53 a	3,07 a
Ausência	0,300 b	0,065 b	6,82 a	2,47 b
C.V.	35,41 %	35,33%	15,77%	21,70%

^MMédias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Na Tabela 2, verifica-se que a ausência de escarificação química e de assepsia com cloro, reduziu a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de emergência de plântulas de *Brachiaria humidicula*. A escarificação química propiciou a superação de dormência, ocasionando maior germinação em comparação a ausência. O aumento na porcentagem de germinação é decorrente da eliminação do impedimento físico, à entrada de água e gases nas sementes, assim, possibilitando uma embebição mais rápida das sementes com uso da escarificação.

Da mesma forma, o índice de velocidade de germinação também foi menor na ausência de escarificação. A emergência de plantas foi reduzida na ausência de assepsia com cloro.

TABELA 2. Germinação, índice de velocidade de germinação, emergência e índice de velocidade de emergência de *Brachiarium humidicula* na presença e ausência de escarificação química (H₂SO₄) e assepsia superficial das sementes.

Tratamentos	Germinação (%)	IVG	Emergência (%)	IVE
<i>Escarificação química (H₂SO₄)</i>				
Presença	^M 47,60 a	4,20 a	30,00 a	1,86 a
Ausência	13,60 b	1,16 b	24,60 a	1,36 b
<i>Assepsia das sementes</i>				
Presença	33,40 a	2,78 a	33,40 a	2,11 a
Ausência	27,80 b	2,57 a	21,20 b	1,11 b
C.V. (%)	29,01	33,46	24,27	32,50

^MMédias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Na presença de escarificação e de assepsia, a primeira contagem de germinação apresentou as maiores porcentagens (Tabela 3). Este resultado pode ser comparado ao de SALLUM et al. (2010) que relatam que a porcentagem de germinação das sementes de *Brachiaria brizantha* cv. 'Marandu' não escarificadas foram inferiores às escarificadas.

TABELA 3. Desdobramento da interação entre os fatores "escarificação" e "assepsia de sementes" para a variável primeira contagem de germinação de *Brachiaria humidicula*.

Tratamentos	Escarificação química (H ₂ SO ₄)	
	Presença	Ausência
<i>Assepsia de sementes</i>	Primeira contagem de germinação	
	-----%	
Presença	^M 7,03 Aa	1,28 Ba
Ausência	0,24 Ab	0,47 Aa

^MMédias seguidas de letras maiúscula diferentes nas linhas e minúscula nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para condutividade elétrica, a ausência de escarificação e a presença da assepsia proporcionou menor leituras (Tabela 4). A escarificação química propiciou eliminação do impedimento físico, possibilitando, assim maior liberação de exsudatos na solução de embebição.

TABELA 4. Desdobramento da interação entre os fatores "escarificação" e "assepsia de sementes" para as variáveis condutividade elétrica e primeira contagem de emergência de sementes *Brachiaria humidicula*.

Tratamentos	Escarificação química (H ₂ SO ₄)			
	Presença		Ausência	
<i>Assepsia de sementes</i>	Condutividade elétrica		Primeira contagem de emergência	
	-----%			
Presença	^M 81,57 Ab	73,48 Aa	9,29 Aa	5,57 Aa
Ausência	174,21 Aa	84,84 Bb	10,19 Aa	0,80 Bb
C.V.(%)	15,92		35,57	

^MMédias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas linhas e minúscula nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação ao crescimento dos patógenos aos 7 e 14 dias, a presença da escarificação química propiciou uma queda de 12 e 20% na incidência de fungos, respectivamente (Tabela 5).

Para porcentagem de fungos *Phomopsis* spp., *Aspergillus flavus* e *Drechslera* sp. nas sementes de *B. humidicula*, não houve diferença em relação a presença e ausência de escarificação e assepsia. Já a o fungo *Phoma* sp. quando utilizado a escarificação química não desenvolveu-se nas sementes da forrageira.

PICOLLOTO et al. (2007) comprovaram que a utilização de hipoclorito de sódio a 5% se mostrou eficiente, diminuindo a contaminação fúngica em sementes de jaboticabeira. Da mesma forma, COUTINHO et al., (2000) avaliaram o uso de

hipoclorito de sódio nas concentrações de 1, 2 e 5% nas sementes, resultando na redução na germinação de conídios de fungos transmitidos por sementes.

De acordo com DONINO et al. (2005), o cloro ativo possui mecanismo de combinações com proteínas da membrana celular de microrganismo que inibem enzimas essenciais para o desenvolvimento de patógenos. Assim, o cloro pode diminuir ou eliminar a contaminação de patógenos nas sementes.

TABELA 5. Crescimento de patógeno no teste de germinação aos 7 e 14 dias, incidência de fungo *Phomopsis* spp., *Aspergillus flavus*, *Phoma* sp.e *Drescheslera* sp. em sementes de *Brachiaria humidicula* na presença e ausência de escarificação química (H₂SO₄) e assepsia superficial das sementes.

Tratamentos	Patógenos (7 dias)	Patógenos (14 dias)	<i>Phomopsis</i> (%)	<i>Aspergillus flavus</i> (%)	<i>Phoma</i> (%)	<i>Drechslera</i> (%)
<i>Escarificação química (H₂SO₄)</i>						
Presença	^M 8,60 a	24,50 a	1,15a	2,49 a	0,00a	0,00 a
Ausência	20,70 b	44,50 b	0,32 a	0,93 a	1,05 b	0,02 a
<i>Assepsia das sementes</i>						
Presença	15,90 a	35,00 a	0,76 a	1,10 a	0,02 b	0,00 a
Ausência	13,40 a	33,80 a	0,59 a	2,24 a	0,78 b	0,02 a
C.V. (%)	42,66	33,04	118,85	61,84	173,02	447,21

^MMédias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

Para crescimento de patógenos aos 21 dias e incidência de *Bipolaris* sp. houve interação entre os fatores estudados, sendo que na ausência de escarificação química, o não uso da assepsia propiciou aumento de desenvolvimento de patógenos e na incidência de *Bipolaris* sp. (Tabela 6).

De forma semelhante, SILVA et al. (2012) observaram que os melhores tratamentos para assepsia de sementes de camu-camu foram hipoclorito de sódio a 0,5% por 20 e 60 minutos e 1,0% por 20 minutos alcançando 0% de contaminação.

Quando se utiliza a escarificação química as sementes não necessitam passar por um assepsia superficial das sementes para eliminação do patógeno *Bipolaris* sp., porém na ausência da escarificação química deve realizar a assepsia das sementes para o controle de *Bipolaris* sp.

TABELA 6. Desdobramento dos fatores "escarificação" e "assepsia de sementes" para as variáveis crescimento de patógenos e incidência de *Bipolaris* sp.

Tratamentos	<i>Escarificação química (H₂SO₄)</i>			
	Presença	Ausência	Presença	Ausência
<i>Assepsia das sementes</i>	Patógeno (21 dias)		Incidência de fungo <i>Bipolaris</i>	

	-----%			
Presença	^M 61,20Aa	63,20Ab	5,33Aa	1,93Ab
Ausência	45,40Bb	68,60 Aa	1,18Ba	24,62 Aa
C.V.(%)	18,05%		57,16%	

^MMédias seguidas de letras maiúscula diferentes nas linhas e minúscula nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

A escarificação propicia maior percentual e velocidade de germinação de sementes de *Brachiaria humidicula* e menor desenvolvimento de patógeno no teste de germinação. A assepsia superficial das sementes potencializa a expressão do potencial fisiológico das sementes. Na ausência da escarificação química deve se realizar a assepsia das sementes para o controle de *Bipolaris* sp.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

COSTA, C. J.; ARAUJO, R. B.; BOAS, H. D. C. V. Tratamento para superação de dormência em sementes de *Brachiaria humidicula* (Rendle) Schweick. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 4, p. 519-524. 2011.

COUTINHO, W. M.; PEREIRA, L. A. A. ;MACHADO, J. C.;SILVA, O. F.;PENA, R. C. M.;MAGALHÃES, F. H. L. Efeitos de hipoclorito de sódio na germinação de conídios de alguns fungos transmitidos por sementes. **Fitopatologia Brasileira** (Impresso) v. 25, p. 552-555, 2000.

CYPRIANO, M. P.; HORTA, L. F.; REIS, G.; PERES, M. S. **Variedades de pastagens**. Área técnica econômica. Banco original. 5 p. 2012. Disponível em: http://bancooriginal.com.br/uploads/INFORMACOES_FINANCEIRAS_INFORME_PE_CUARIO/Janeiro_2012_Variedades%20das%20Pastagens.pdf. Acesso em: 11 de junho de 2013.

DONINI, L. P.; MOURA, I. F.; GUISSO, A. P.; SOUZA, J. A.; VIÉGAS, J. Preparo de lâminas foliares de aráceas ornamentais: desinfestação com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Arquivo Instituto Biológico**, v.72, n.4, p.517-522, 2005.

FERREIRA, E. G. B. S.; MATOS, V. P.; GONÇALVES, E. P.; FERREIRA, R. L. C.; SILVA, R. B. Tratamentos pré-germinativos em sementes de duas espécies do gênero *Poincianella*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 3, p. 566-572, 2014.

LOPES, J. C.; DIAS, P. C.; MACEDO, C. M. P. Tratamentos para acelerar a germinação e reduzir a deterioração das sementes de *ormosia nitida* vog. **Revista árvore**, v.30, n.2, p.171-177, 2006.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

PEREIRA, C. E.; OLIVEIRA, J. A.; ROSA, M. C. M.; KIKUTTI, A. L. P. Armazenamento de sementes de braquiária peletizadas e tratadas com fungicida e inseticida. **Ciência Rural**, v.41, n.12, p.2060-2065, 2011.

PICOLLOTO, L.; SCHUCH, M. W.; SOUZA, J. A.; SILVA, L. C.; FERRI, J.; FACHINELLO, J. C. Efeito do hipoclorito de sódio, fotoperíodo e temperatura no estabelecimento invitro de jabuticabeira. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 1, p. 19-23. 2007.

PREVIERO, C. A.; GROTH, D.; SOAVE, J. Sobrevivência de *Drechslera* spp. em sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst.exA.Rich.) Stapf armazenadas em ambiente natural. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 2, p.148-154, 1999.

SALLUM, M. S. S.; ALVES, D. S.; AGOSTINI, E. A. T.; MACHADO NETO, N. B. Neutralização da escarificação química sobre a germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. 'Marandu'. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.5, n.3, p. 315-321, 2010.

SANTOS, F. C.; OLIVEIRA, J. A.; PINHO, E. V. R. V.; GUIMARÃES, R. M.; VIEIRA, A. R. Tratamento químico, revestimento e armazenamento de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. MARANDU. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 32, n. 3, p.69-78, 2010.

SOUZA, M. A.; COSTA, J. S.; TORRES, A. L. Uso do teste de tetrazólio e blottertest para avaliação fisiológica e sanitária de sementes comerciais de cultivares de *Brachiaria* spp. **Revista FACTU Ciência**. v.12, n. 12,p. 27-50. 2007.

VIERA, R. D.; KRYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, cap.4, p.4.1-4.26.1999.

ZONATO, M. F.; HOMECHIN, M.; HENNING, A. A. Efeitos da assepsia superficial com diferentes agentes químicos na incidência de microrganismos em sementes de soja. **Revista Brasileira e semente**. v. 23, n. 1, p. 159-166, 2001.