Qualidade de sementes, estabelecimento e crescimento inicial de aveia-preta submetida a estresse por cobre

Mariane Comiran*; Ubirajara Russi Nunes*; Janine Farias Menegaes**; Raquel Stefanello*.

*Universidade Federal de Santa Maria- UFSM, Brasil.

**Universidade Estadual Paulista- UNESP, Brasil.

*Autor para correspondência e-mail: janine.menegaes@unesp.br

Palavras-chave

Avena strigosa Schreb
Memorização do estresse
Metais pesados
Deterioração artificial

Keywords

Avena strigosa Schreb
Stress memorization
Heavy metals
Artificial deterioration

Resumo: Pretendeu-se com este trabalho avaliar a interferência do cobre (Cu) nos processos de germinação, crescimento e desenvolvimento inicial de dois lotes de aveia-preta, um dos quais foi originado pela técnica de envelhecimento acelerado. Foram realizados dois experimentos, o primeiro avaliou a capacidade de estabelecimento e crescimento inicial de plântulas e o segundo, conduzido em sistema hidropônico, avaliou o desenvolvimento da planta. Foi adotado para os experimentos o delineamento inteiramente casualizado, sendo o segundo experimento conduzido em parcelas sub subdivididas. Utilizou-se o esquema fatorial (5x2) com cinco concentrações de cobre (0, 25, 50, 100, 200 μM de CuSO_4) e dois níveis de vigor. As concentrações de 0 a 200 μM de CuSO_4 não alteraram a qualidade fisiológica de sementes de aveia-preta de alto e baixo vigor. As diferentes concentrações de cobre foram prejudiciais ao estabelecimento e crescimento inicial de plantas de aveia-preta independente dos níveis de vigor das sementes utilizadas.

Seed quality, establishment and initial growth of black oat subjected to copper stress

Abstract: The aim of this work was to evaluate the interference of copper (Cu) in the processes of germination, growth and initial development of two batches of black oats, one of which was originated by the accelerated aging technique. Two experiments were carried out, the first evaluated the capacity for establishment and initial growth of seedlings and the second, conducted in a hydroponic system, evaluated the development of the plant. A completely randomized design was adopted for the experiments, with the second experiment being conducted in subdivided plots. A factorial scheme (5x2) was used with five copper concentrations (0, 25, 50, 100, 200 μM CuSO_4) and two vigor levels. Concentrations of 0 to 200 μM of CuSO_4 did not alter the physiological quality of high and low vigor black oat seeds. The different concentrations of copper were harmful to the establishment and initial growth of black oat plants, regardless of the vigor levels of the seeds used.

Recebido em: 01/2024

Aprovação final em: 04/2024

Introdução

Assim como outras plantas de cobertura, a aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb.) representa uma alternativa conservacionista para o cultivo de inverno e possui dentre outros um importante papel na proteção do solo, o qual realiza por meio da minimização do impacto das gotas da chuva, reduzindo o transporte de partículas e de elementos pesados a mananciais. Esse papel protetor proporcionado por estas plantas reduz a possibilidade de maiores impactos ambientais (ZANCHETA *et al.*, 2011).

Independentemente, da finalidade da implantação da cultura, cobertura de solo, produção de grãos ou forragicultura, a espécie possui uma alta produção de biomassa e uma alta relação carbono/nitrogênio (C/N) dos resíduos, o que contribui para uma liberação mais lenta dos nutrientes no solo (SILVA *et al.*, 2012). Sendo o cultivo de inverno uma fonte de renda secundária para o produtor o investimento realizado nesta época é normalmente inferior ao realizado nas culturas de verão, o que algumas vezes pode refletir em perdas significativas de produtividade. No Brasil, há muita variação na qualidade da semente de espécies forrageiras comercializadas, o que resulta algumas vezes no uso de sementes de baixa qualidade (HOLBIG *et al.*, 2011). Considerando que o estabelecimento do estande adequado de plantas é um dos componentes de rendimento das culturas a qualidade fisiológica das sementes utilizadas é de extrema importância.

A qualidade da semente é avaliada pelo somatório dos atributos genético, físico e fisiológico que podem influenciar o desempenho desde a germinação, crescimento e desenvolvimento até o esgotamento de suas reservas. Quando a semente se desvincula de sua planta mãe ela é fisiologicamente madura, apresenta sua máxima qualidade, e com o decorrer do tempo passa por um processo contínuo e irreversível de envelhecimento que consiste no declínio de funções biológicas e fisiológicas (MARCOS FILHO, 2015).

O vigor da semente é apenas um dos fatores que pode influenciar o estabelecimento das plântulas a campo, condições climáticas, de solo e inerentes as espécies também possuem impacto sobre este processo. Na literatura podem ser encontrados relatos de dificuldade na germinação e estabelecimento de plântulas quando expostas a alguns metais (POKORSKA-NIEWIADA *et al.*, 2018; RAKLAMI *et al.*, 2021) ou a condições de estresse quando ocasionado pelo excesso de sais (BARBIERI *et al.*, 2019; STEFANELLO *et al.*, 2020).

A contaminação ocasionada por metais pesados tem sido definida com um problema ambiental propagado em escalas globais e as ações antrópicas são parcialmente responsáveis por esta atual conjuntura (ALI *et al.*, 2013). As atividades agrícolas podem ocasionar o incremento em solo das concentrações naturais de alguns metais (KAVAMURA; ESPOSITO, 2010), por exemplo, a aplicação de fungicidas com base cúprica como a calda bordalesa, $[CuSO_4 \cdot 5H_2O + Ca(OH)_2]$ e o uso indiscriminado de dejetos como fonte de fertilização podem aumentar as concentrações de cobre (Cu) no solo a níveis indesejáveis (GIROTTO *et al.*, 2013; FENG *et al.*, 2018).

O cobre (Cu) é um micronutriente essencial à planta, participando de processos de extrema importância, como fotossíntese, respiração mitocondrial, metabolismo de carboidratos sistema antioxidante, formação de parede celular, síntese de proteínas (KABATA-PENDIAS, 2011). Devido a sua ativa participação no metabolismo das plantas, alterações nas concentrações de cobre podem ocasionar toxidez (YRUELA, 2009). Por exemplo, nos aspectos visual das flores calla (*Zantedeschia* spp.), cravina-de-jardim (*Dianthus chinensis* L.) e crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzevelev) (MENEGAES *et al.*, 2020), bem como, pode se manifestar desde o surgimento de uma nova planta ocasionando danos ao processo germinativo, como em arroz (*Oryza sativa* L.), trigo (*Triticum* spp.), colza (*Brassica napus* L.) e alfafa (*Medicago sativa* L.) (AHSAN *et al.*, 2007; GANG *et al.*, 2013; POKORSKA-NIEWIADA *et al.*, 2018; RAKLAMI *et al.*, 2021) prolongando-se a todo seu desenvolvimento.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar interferência do cobre, nos processos de germinação, crescimento e desenvolvimento inicial de dois lotes de aveia-preta.

Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório Didático e de Pesquisa em Sementes do

Departamento de Fitotecnia e em casa de vegetação e Laboratório de Bioquímica de Plantas no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, localizado em Santa Maria, RS (29°43' S; 53°43' W e altitude de 95m). O clima na região é subtropical úmido (Cfa), segundo a classificação de Köppen-Geiger, com precipitação média anual acumulada de 1.769 mm, temperatura média anual próxima de 19,2 °C e umidade do ar em torno de 78,4% (ALVARES *et al.*, 2013).

Foi utilizado um lote de sementes de aveia-preta (*A. strigosa*) produzido na região nordeste do Rio Grande do Sul, safra 2015. Uma parte das sementes foi submetida ao processo de envelhecimento acelerado para estratificação em níveis de vigor, dessa forma, obteve-se sementes sem envelhecimento (Lote 1) e com envelhecimento (Lote 2). Foram utilizadas caixas plásticas tipo gerbox, na qual adicionou-se 40 mL de água destilada e sob as quais foram inseridas telas de arame galvanizado para a distribuição de 400 sementes por tela, em seguida as caixas foram fechadas com fita crepe para manutenção da umidade em 100% e inseridas em estufa incubadora por um período de 72 horas a uma temperatura de 42° C, seguindo metodologia adaptada de Marcos Filho (2020).

Os lotes gerados do processo de estratificação foram caracterizados através de testes de avaliação da qualidade física e fisiológica das sementes e definidos conforme suas características como de alto (Lote 1) e baixo vigor (Lote 2).

Foram realizados testes de primeira contagem e germinação, respectivamente, ao quinto e décimo dia após início do teste, massa de mil sementes e grau de umidade de acordo com metodologia descrita nas Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009), comprimento do sistema de raízes primárias e comprimento de parte aérea, massa seca de plântulas (NAKAGAWA, 2020), envelhecimento acelerado (MARCOS FILHO, 2020) emergência em campo (MAGUIRE, 1962), condutividade elétrica de sementes e teste de frio sem solo (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 2020).

Teste padrão de germinação: foram utilizadas oito repetições de 50 sementes para cada lote, semeadas em rolos de papel umedecidos a 2,5 vezes a massa do papel seco e mantidos em germinador regulado a 20° C. As avaliações foram realizadas ao 5 e 10 dias após a semeadura (DAS) para o teste de primeira contagem e o teste de germinação final, respectivamente, os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais. Para os testes considerou-se como plântulas normais aquelas que apresentaram comprimento do sistema de raízes primárias e comprimento de parte aérea igual ou superior ao comprimento da semente. Por meio do teste de primeira contagem foi considerado lote de alto vigor aquele que após o processo de estratificação apresentou porcentagem de plântulas normais igual ou superior a 80% e lote de baixo vigor aquele que apresentou porcentagem inferior a 75%.

Massa de mil sementes: obtida por oito subamostras (repetições) de 100 sementes, as quais foram aferidas em balança de precisão (0,0001 g) e o resultado foi expresso em gramas.

Grau de umidade: determinado pelo método de estufa a 105° C ± 3° C por 24 h com circulação forçada de ar, utilizando-se duas repetições para cada lote.

Comprimento e massa seca das plântulas: foram utilizadas as plântulas normais obtidas a partir da semeadura de oito repetições de 20 sementes. As sementes foram semeadas em duas linhas desencontradas no terço superior do papel, nas mesmas condições do teste padrão de germinação. O comprimento médio das plântulas foi obtido somando as medidas de cada repetição e dividindo pelo número de plântulas normais mensuradas, com resultados expressos em centímetros. As massas secas foram retiradas ao acaso, provenientes do teste anterior, mantidas em sacos de papel, em estufa a 60 ± 5° C, até a obtenção de massa constante (48 h). Em seguida, as repetições foram pesadas em balança de precisão 0,001 g, e a massa obtida foi dividida pelo número de plântulas normais, sendo os resultados expressos em miligramas por plântula (mg plântula⁻¹).

Teste de envelhecimento acelerado: realizado pelo método gerbox, com 40 mL de água destilada por gerbox à temperatura de 42° C por período de 48 h. Decorrido o período de exposição as sementes foram submetidas ao teste de germinação com oito repetições de 50 sementes por lote.

Emergência em campo: realizada em canteiros, em que a semeadura foi em linhas com 50 sementes cada e oito repetições. As plântulas emergidas foram quantificadas diariamente até a estabilização numérica da emergência, a fim de obter o índice de velocidade de emergência (IVE) e a emergência final.

Condutividade elétrica de sementes: foram utilizadas oito repetições de 50 sementes por lote, nos quais foi determinado primeiramente a massa, em seguida, tais amostras foram embebidas em 75 mL de água destilada/deionizada a 25° C. Após 24 horas procedeu-se a leitura da condutividade elétrica da solução de imersão.

Teste de frio sem solo: oito repetições de 50 sementes foram semeadas em papel filtro sendo os rolos acondicionados em sacos plásticos e vedados com fita crepe, posteriormente colocados em câmara regulada previamente à temperatura de 10° C, onde permaneceram por cinco dias, sendo após colocados em germinador regulado a 20° C. As avaliações foram realizadas após cinco dias. Os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais, conforme recomendação de Brasil (2009).

Para a realização do experimento I - Influência da qualidade fisiológica sobre a germinação de sementes de aveia-preta submetidas a distintos tratamentos com cobre em condições controladas. As sementes de aveia-preta de alto e baixo vigor (fator D) provenientes do processo de estratificação em níveis de vigor e diferentes concentrações de cobre (0, 25, 50, 100, 200 µM) na forma de CuSO₄ (sulfato de cobre) (fator A) diluído em água pura destilada compuseram os tratamentos em bifatorial (AxD) avaliados neste experimento.

O experimento foi conduzido através da avaliação de 8 repetições de 50 sementes que foram semeadas em papel filtro (*germitest*) umedecido a 2,5 vezes a massa do papel seco com a solução de água e CuSO₄ que compõe os níveis do fator A. Os tratamentos (AxD) foram mantidos em germinador do tipo BOD regulado a 20° C com fotoperíodo de 24 h. Aos 5 DAS foram realizadas a primeira contagem e aos 10 DAS foi realizada a segunda contagem do teste de germinação classificando como plântula normal, anormal, semente morta e dura.

Nestas oito repetições de 50 sementes os parâmetros fisiológicos também foram avaliados, o comprimento de raiz e parte aérea foi determinado com auxílio de régua milimétrica e a massa seca de plântulas foi determinada inserindo as amostras em estufa a 60±5° C até a obtenção de massa constante (48 h) e pesando-as em balança de precisão 0,001 g, conforme metodologia descrita por Nakagawa (2020).

Para o experimento II - Influência da qualidade fisiológica sobre o crescimento e desenvolvimento inicial de plântulas de aveia-preta submetidas a distintos tratamentos com cobre em sistema hidropônico. Os lotes de sementes de alto e baixo vigor foram semeados em caixas plásticas transparentes contendo três folhas de papel filtro (*germitest*), as quais foram inicialmente umedecidas com água destilada o equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco e mantidas em germinador do tipo BOD regulado a 20° C e fotoperíodo de 24 h. Ao fim de oito dias, 20 plântulas/repetição/tratamento, classificadas como normais, foram transferidas para sistema hidropônico constituído por bandejas plásticas (17 L) recobertas por placas de isopor contendo orifícios onde foram inseridas malhas de nylon que atuaram como suporte físico para as plântulas (Figura 1).

As raízes das plantas foram submersas em solução nutritiva aerada completa de baixa força iônica cuja composição (mg L⁻¹) foi: 85,31 de N; 7,54 de P; 11,54 de S; 97,64 de Ca; 23,68 de Mg; 104,75 de K; 176,76 de Cl; 0,27 de B; 0,05 de Mo; 0,01 de Ni; 0,13 de Zn; 0,03 de Cu; 0,11 de Mn e 2,68 de Fe. As plantas foram mantidas nesta condição por 16 dias, sendo substituída a solução nutritiva a cada 7 dias, mesmo momento em que o pH da solução foi ajustado para 5,0 ± 0,1, utilizando uma solução de HCl ou NaOH (1 M).

Após o período acima descrito, foi realizada a substituição da solução nutritiva acrescentando-se a esta as concentrações de cobre (0, 25, 50, 100, 200 µM de CuSO₄) que configuraram os tratamentos (fator A). As plantas foram mantidas neste ambiente por 8 dias, ao final dos quais foram avaliados parâmetros de crescimento em 10 plântulas/repetição/tratamento, assim com auxílio de régua milimétrica se mensurou os comprimentos de raiz e parte aérea e foi determinada a massa seca destes órgãos, inserindo-os separadamente em sacos de papel e em estufa a 60±5° C até a obtenção de massa constante (48 h), a partir da qual essa massa foi pesada em balança de precisão 0,001 g. O delineamento experimental adotado neste experimento foi o delineamento inteiramente casualizado com parcelas sub subdivididas, espaço e tempo, o fator A foi composto por 3 repetições e o fator D por 15 repetições.

Figura 1 - Esquema representativo do sistema hidropônico utilizado no experimento II Influência da qualidade fisiológica sobre o estabelecimento e crescimento inicial de plântulas de aveia-preta submetidas a distintos tratamentos com cobre em sistema hidropônico.

O delineamento experimental adotado para os experimentos foi o delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial (5x2) com cinco concentrações de cobre (0, 25, 50, 100, 200 μM de CuSO_4) e dois níveis de vigor. Excetuando-se os resultados da determinação de peso de mil sementes e grau de umidade, os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) utilizando o software R. Foi utilizada análise de comparação de médias pelo teste de Tukey ($p\text{-valor} < 0,05$) para o fator qualitativo e análise de regressão para o fator quantitativo. A fim de atender as pressuposições do modelo matemático quando necessário foi utilizada a metodologia Box-Cox para a transformação adequada dos dados.

Resultados e discussão

O metabolismo da semente é influenciado por sua umidade, assim é desejável que os lotes sejam uniformes tanto em umidade como em massa de mil sementes a fim de que estes dados não impactem os resultados dos testes de caracterização inicial, no que se refere a qualidade fisiológica da semente. Após a estratificação do lote em dois níveis de vigor realizou-se a padronização da umidade, que como observado na Tabela 1 se enquadrou na amplitude máxima aceita que varia de 3 a 4 pontos percentuais como indica Marcos Filho (2020).

Tabela 1 - Caracterização inicial de dois lotes de sementes de aveia-preta em condições controladas. Médias da porcentagem de (G), primeira contagem (PC), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA), (CEM), (CPA), (CR), comprimento total (CT) e (MS).

Caracterização inicial	Lotes de sementes de aveia-preta		
	1 ^A	2 ^B	CV (%)
Umidade (%) [§]	11,5	9,8	-
Massa de mil sementes (g) [§]	24,04	23,49	-
Germinação (%)	97,5 ^{ns}	95	2,91
Primeira contagem (%)	84,5 a [*]	72,0 b	11,13
Teste de frio (%)	93,25 a	88,0 b	4,79
Envelhecimento acelerado (%)	88,25 a	26,26 b	10
Condutividade elétrica massal ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$)	29,10 a	26,26 b	6,41
Comprimento de parte aérea (cm)	2,338 a	1,965 b	10,56
Comprimento de raiz (cm)	6,707 a	5,705 b	10,78
Comprimento total (cm)	9,046 a	7,670 b	8,89
Massa seca de plântula (g plântula ⁻¹)	0,020 ^{ns}	0,021	10,05

§ Sem análise estatística. * Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p\text{-valor} < 0,05$). ns Não significativo. A Sementes não envelhecidas. B Sementes envelhecidas.

Observou-se que os lotes de sementes apresentaram germinação acima do mínimo recomendado para comercialização de sementes fiscalizadas que é de 80% (BRASIL, 2016) e não foram significativamente diferentes um do outro.

Em contrapartida, os testes de primeira contagem (PC), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA), condutividade elétrica massal (CEM), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento do sistema de raízes primárias (CR), comprimento total da plântula (CT) foram mais sensíveis e mostraram diferença significativa entre os lotes, apresentando em todas estas avaliações valores inferiores para o lote 2.

A técnica de envelhecimento acelerado, aplicada para obtenção do lote 2, simula a deterioração que ocorre na semente durante seu armazenamento e utiliza os principais fatores que corroboram para esse resultado, a temperatura e a umidade. Segundo Ohlson *et al.* (2010), a estratificação em níveis de vigor por meio da técnica de envelhecimento acelerado consiste na submissão das sementes a condições extremas de umidade e temperatura tendo como base a taxa de deterioração das sementes.

Os autores, Oliveira *et al.* (2020), Araújo *et al.* (2021), Coelho *et al.* (2022), Carvalho *et al.* (2023), com o mesmo intuito verificaram o envelhecimento acelerado das sementes de braquiária (*Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf.), grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) e café (*Coffea* sp.), respectivamente. Imediatamente, após a maturidade fisiológica, uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas têm início e evoluem em ritmo progressivo ocasionando a queda do potencial de desempenho da semente (germinação e vigor) levando-a a senescência. Os testes de vigor são baseados nestas alterações e quanto mais próxima da maturidade fisiológica mais sensível deverá ser o teste para detectar alterações na qualidade fisiológica da semente.

Desta forma, foram realizados diversos testes que possibilitaram uma melhor definição do vigor dos lotes. O lote 2 apresentou valores inferiores ao primeiro lote em todos os testes realizados excetuando-se germinação e massa seca total de plântulas. Segundo Soares *et al.* (2015), a desuniformidade do lote em tamanho e condição de semente pode impactar os resultados de massa seca da plântula, inclusive sobre condições de estresse. Neste trabalho, o uso de sementes padronizadas permitiu que a transferência de massa seca do tecido de reserva para o eixo embrionário ocorresse de forma semelhante nos lotes, não sendo este teste sensível para a detecção da diferença de vigor entre os lotes.

Com grande frequência os resultados de emergência de plântulas no campo não correspondem ao potencial de germinação indicado nos lotes de sementes comercializados. O desempenho do lote é avaliado tendo como ferramenta o teste padrão de germinação em laboratório, sob condições adequadas de temperatura, umidade e fotoperíodo. Segundo Scheeren *et al.* (2010) a realização de testes complementares, por exemplo, o teste de emergência de plântulas em campo, um método direto de avaliação do desempenho das plântulas por meio de sua exposição a condições ambientais naturais, permitem uma melhor avaliação do potencial fisiológico da semente.

Foi possível diferenciar os lotes de sementes por sua qualidade através dos resultados de emergência das plântulas no campo (Tabela 2), observando-se uma menor emergência (EM) para o lote 2. Da mesma forma, este lote apresentou número médio de plântulas normais que emergiram por dia (IVE), inferior ao primeiro lote. Dados os resultados obtidos nestes testes se definiu o primeiro lote como de alto vigor e o segundo lote como de baixo vigor.

Tabela 2 - Caracterização inicial de dois lotes de sementes de aveia-preta a campo. Médias do índice de velocidade de emergência em solo (IVE), da porcentagem de plântulas emergidas (EM), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), comprimento total (CT) e massa seca de plântula (MS).

Lotes	IVE	EM (%)	CPA (cm)	CR (cm)	CT (cm)	MS (g plântula ⁻¹)
1 ^A	7,818 ^{a*}	97,7a	6,444 ^{ns}	5,214 ^{ns}	11,657a	0,018 ^{ns}
2 ^B	6,235b [*]	92,25b	5,988	4,986	10,685b	0,018
CV(%)	3,03	6,6	6,99	14,39	6,77	13,34

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p-valor<0,05). A Sementes não envelhecidas. B Sementes envelhecidas. Ns Não significativo.

Influência da qualidade fisiológica sobre a germinação de sementes de aveia-preta submetidas a distintos tratamentos com cobre em condições controladas

Neste experimento os fatores em estudo atuaram independentemente sobre as variáveis germinação, primeira contagem e número de plântulas danificadas e mortas. Analisados os efeitos simples dos fatores não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações de cobre (CuSO_4), entretanto o vigor influenciou significativamente o desempenho das variáveis (Figura 2A). A porcentagem de plântulas normais obtidas tanto na germinação como na primeira contagem foi superior para sementes provenientes de um nível de vigor superior, o que reflete em maior capacidade de estabelecimento e em um estande adequado de plantas.

Figura 2 - Efeito dos níveis de vigor sobre a porcentagem de plântulas normais na primeira contagem e na germinação (A) e porcentagem de plântulas danificadas e plântulas mortas de aveia-preta (B). Letras minúsculas diferentes nas barras diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam o desvio padrão.

Por outro lado, a técnica de envelhecer artificialmente um lote de sementes acelera o processo de deterioração, o que neste estudo ocasionou uma redução na germinação e no número de plântulas normais obtidas durante a primeira contagem. Esse processo também resultou em perda de viabilidade da semente, ocasionada pela dificuldade de replicação do DNA celular e pela incapacidade destas sementes repararem as lesões decorrente da intensidade e velocidade com que ocorreu o processo de envelhecimento acelerado (Figura 2B).

Resultados semelhantes foram observados em sementes de braquiária, cártamo e café, segundo Oliveira *et al.* (2020), Coelho *et al.* (2022) e Carvalho *et al.* (2023). Para Maia *et al.* (2007) em estudo avaliando unicamente a qualidade fisiológica de sementes de trigo submetidas ao envelhecimento acelerado concluiu que a imposição à semente a esse estresse ocasionou atraso no processo germinativo, menor crescimento do embrião e aumento de susceptibilidade a estresses ambientais, levando eventualmente a perda de viabilidade.

Considerando os resultados obtidos na primeira contagem é possível dizer que a diferença entre o lote de sementes de maior vigor e o lote de sementes deterioradas artificialmente e consideradas como de baixo vigor foi evidente, com uma redução de 53,65 pontos percentuais entre o primeiro e o segundo lote. Essa diferença foi observada também na variável germinação que mesmo sendo inferior no lote de vigor mais baixo ainda se manteve acima do limite exigido para comercialização.

Marcos Filho (2015) definiu essa redução como consequência da queda da taxa respiratória, indicando que o número e/ou a eficiência das mitocôndrias em plantas originadas de sementes deterioradas são inferiores ao presente em sementes vigorosas. Isso também explica a maior porcentagem de plântulas mortas no lote que possui sementes com nível de vigor mais baixo.

Por outro lado, as concentrações de cobre em estudo não diferiram significativamente entre si e dentro dos níveis de vigor nestas avaliações, podendo se assumir que independente do vigor da semente as concentrações de CuSO_4 utilizadas foram insuficientes para ocasionar danos ao processo germinativo e as estruturas essenciais ao desenvolvimento da nova plântula sendo o impacto do cobre sobre os processos iniciais de formação da plântula irrisório. Estudando concentrações de cobre superiores as utilizadas neste ensaio (1000 μM e 2000 μM de Cu). Ahsan *et al.* (2007) observou redução significativa na taxa de germinação de sementes de arroz. Nesta mesma cultura, Ye *et al.* (2014) observaram que após 20 horas de embebição, concentrações de 10 μM e 100 μM de Cu inibiram parcialmente e totalmente a germinação das sementes. Os autores relataram que a retirada das cariopses da semente permitiu um maior contato das estruturas com a solução, deixando-a mais exposta ao efeito do cobre.

Na avaliação dos parâmetros de crescimento, comprimento de parte aérea, raiz e total a interação entre os fatores em estudo foi significativa, logo o comportamento observado foi diferente para os níveis de vigor nas concentrações de Cu aplicadas (Figura 3).

Figura 3 - Efeito da concentração de cobre e dos níveis de vigor sobre o comprimento de parte aérea (A), comprimento de raiz (B), comprimento total (C) e massa seca de plântulas (D) de aveia-preta. Os resultados são expressos em centímetros (cm) e gramas por plântula (g. plântula⁻¹). Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (p-valor<0,05), no nível de vigor em cada concentração de cobre. As barras expressam o desvio padrão.

Não foi possível ajustar equações que representassem corretamente o comportamento de plântulas oriundas do lote de sementes de baixo vigor nas variáveis de crescimento estudadas, no entanto, considerando o tratamento controle (0 μM Cu) e a máxima concentração estudada (240 μM Cu) a redução no comprimento da parte aérea, de raiz e total foi de aproximadamente 20, 5 e 15 pontos percentuais, respectivamente. Os valores observados nestas variáveis para plântulas originadas de sementes de baixo vigor são inferiores aos obtidos em plântulas cujo vigor é superior.

O comportamento das plântulas originadas de sementes de alto vigor nas variáveis em estudo, quando estas foram submetidas a concentrações crescentes de Cu foi melhor representado por equações lineares decrescentes na qual o aumento das concentrações de cobre conduziu a uma redução no comprimento de raiz de 58 pontos percentuais da concentração mais alta (240 μM) em relação ao tratamento controle (0 μM) (Figura 3B). Comportamento semelhante foi observado para comprimento de parte aérea com redução de 23 pontos percentuais (Figura 3A). Em relação ao comprimento total da plântula, sementes de alto vigor sob ausência de Cu (0 μM) originaram plântulas com altura de 12,8 cm, enquanto as de baixo vigor originaram nesta mesma concentração plântulas de 7,025 cm de altura. Por outro lado, na concentração de 240 μM , os comprimentos obtidos foram inferiores, 6,64 e 5,92 cm respectivamente para alto e baixo vigor (Figura 3C). Ahsan *et al.* (2007) observaram que concentrações de 200 μM e 250 μM de Cu ocasionaram a inibição do crescimento de parte aérea e a inibição do crescimento radicular de plântulas de arroz, respectivamente, os autores ainda observaram que concentrações de 500 μM de Cu inibiram a formação de raízes.

Para massa seca de plântula não foi observada interação significativa entre os fatores, apenas diferindo em níveis de vigor, no qual houve maior acúmulo de massa seca em plântulas provenientes de semente de baixo vigor (Figura 3D). De acordo com Marco Filho (2015), após iniciado o processo de deterioração, que é contínuo, a semente se torna mais sensível a variações nas condições ambientais o que pode resultar em maior velocidade de deterioração da semente, podendo se obter a cada novo teste um resultado diferente do anterior.

Influência da qualidade fisiológica sobre o crescimento e desenvolvimento inicial de plântulas de aveia-preta submetidas a distintos tratamentos com cobre em sistema hidropônico

É documentado na literatura, que o excesso de cobre pode induzir a diminuição do crescimento e o estresse oxidativo nos tecidos das plantas de distintas espécies, da mesma forma o vigor dos lotes de sementes pode influenciar o estabelecimento e o crescimento inicial das plantas. Neste experimento buscou-se observar a ocorrência de interação entre os fatores estudados sobre as características de crescimento das plantas, no entanto, tanto vigor como a concentração de cobre aplicada atuaram separadamente sobre essas características. Assim apresentam-se os resultados do efeito individual de cada fator.

O aumento das concentrações de Cu em sistema hidropônico ocasionou a redução dos comprimentos e da massa seca de raiz, parte aérea e total (Figura 4). Excetuando-se o comprimento de raiz que melhor se ajustou a uma regressão linear de segundo grau (Figura 4A), os demais ajustaram-se a regressões não lineares, seguindo a frequência de distribuição de Weibull, amplamente utilizada em trabalhos que avaliam fitotoxidez em parâmetros biológicos (TAYLOR *et al.*, 1990). A característica deste modelo é que existem dois pontos de inflexão, um ponto máximo no qual o máximo comprimento de parte aérea é obtido, por exemplo, e a partir do qual há um declínio, e um ponto mínimo no qual ocorre a estabilização deste declínio e a partir do qual o aumento das concentrações de cobre não refletirá em redução do comprimento, mantendo-se estável.

A influência do cobre na redução do crescimento de parte aérea, raiz e total da planta é frequentemente relatada na literatura, sendo descrita para diversas espécies e concentrações de Cu, por Ahsan *et al.* (2007), Saberi e Shahriari (2011) e Pena *et al.* (2015). Em complemento a estes trabalhos alguns autores analisaram também o reflexo das concentrações de cobre na massa seca de parte aérea, raiz e planta de trigo (GANG *et al.*, 2013).

O impacto dos níveis de vigor, alto e baixo, sobre o comprimento e a massa seca das plantas,

apesar de não significativo para raiz, foi significativo, para comprimento e massa seca de parte aérea e total (Tabela 2). Independentemente do parâmetro avaliado, plantas oriundas de sementes de baixo vigor apresentaram resultados mais expressivos do que plantas oriundas de sementes de alto vigor.

Contrastando isto, Souza *et al.* (2009), estudando o envelhecimento acelerado em cinco lotes de sementes de aveia-preta, observou em sua caracterização inicial que os lotes considerados de alto vigor apresentaram os maiores valores para germinação, emergência, comprimento de parte aérea e raiz. Da mesma forma, Dode *et al.* (2016), utilizando para obtenção dos lotes em trigo semelhante metodologia a aplicada neste trabalho observou que os lotes classificados como de vigor inferior apresentaram menor crescimento de parte aérea, raiz e massa seca.

Figura 4 - Efeito da concentração de cobre sobre o comprimento de raiz (A) comprimento de parte aérea (C), comprimento total (E) e massa seca de raiz (B), massa seca de parte aérea (D) e massa seca total (F) de aveia-preta. Os resultados são expressos em centímetros (cm) e gramas por plântula (g plântula⁻¹), as barras expressam o desvio padrão.

Por outro lado, Binotti *et al.* (2008) analisando o crescimento do hipocótilo e da raiz de feijão sob diferentes tempos de envelhecimento acelerado observaram que sementes de baixo vigor apresentaram crescimento superior às de alto vigor (não envelhecidas), o que segundo estes autores pode relacionar-se a ativação de enzimas que influenciam nas atividades metabólicas e promovem o crescimento. Neste estudo duas hipóteses podem ser discutidas a fim de justificar os motivos que conduziram a obtenção de valores superiores de crescimento em plantas originadas de sementes de baixo vigor.

Uma destas hipóteses diz respeito a capacidade desta semente restabelecer sua integridade celular durante a embebição a ponto de crescer e se desenvolver igualando-se e sendo superior as sementes consideradas de alto vigor. Outra hipótese aborda a capacidade de memorização da planta, que tem sido frequentemente discutida por alguns autores (LI *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2016), na qual a submissão da planta no seu desenvolvimento inicial a uma condição de estresse permite que ela seja capaz de crescer e desenvolver-se caso seja novamente submetida a essa ou outra condição de estresse, podendo ser neste caso inclusive superior a uma planta que não foi submetida ao mesmo processo.

Cabe ressaltar que neste estudo após obter-se o lote de sementes de baixo vigor pelo processo de envelhecimento acelerado, ambos os lotes passaram por outra condição de estresse, o transplante à casa de vegetação, na qual foram inseridas em sistema hidropônico. Assim, tendo em vista que as plantas originadas do processo de envelhecimento acelerado já haviam sido submetidas a uma condição adversa, estas se encontravam mais aptas a suportar essa segunda dificuldade, resultando isso nos maiores valores obtidos em comprimento e massa seca.

Conclusões

As concentrações de 0 a 200 μM de CuSO_4 não alteraram a qualidade fisiológica de sementes de aveia-preta de alto e baixo vigor.

As diferentes concentrações de cobre foram prejudiciais ao estabelecimento e crescimento inicial de plantas de aveia-preta independente dos níveis de vigor das sementes utilizadas.

Referências

- AHSAN, N.; LEE, D.; LEE, S. KANG, K. Y.; LEE, J. J.; KIM, P. J.; YOON, H.; KIM, J.; LEE, B. Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. **Chemosphere**, v.67, n.6, p.1182-1193, 2007. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653506013981>. Acesso em: 10 de abr. de 2020.
- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M.A. Phytoremediation of heavy metals - Concepts and applications. **Chemosphere**, v.91, n.7, p.869-881, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653513001914>. Acesso em: 18 de abr. de 2020.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPARO, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v.22, n.1, p. 711-728, 2013. Disponível em: http://www.lerf.eco.br/img/publicacoes/Alvares_etal_2014.pdf. Acesso em: 18 de dez. de 2023.
- ARAÚJO, J. O.; DIAS, D. C. F. S.; NASCIMENTO, W. M.; MARTINS, A. O.; LIMÃO, M. A. R. Accelerated aging test and antioxidant enzyme activity to assess chickpea seed vigor. **Journal of Seed Science**, v.43, e202143038, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v43253934>. Acesso em: 18 de dez. de 2023.
- BARBIERI, G. F.; STEFANELLO, R., MENEGAES, J. F., MUNARETO, J. D. NUNES, U. R. Seed germination and initial growth of quinoa seedlings under water and salt stress. **Journal Agricultural Science**, v.11, p.153-161, 2019. doi: 10.5539/jas.v11n15p153. Acesso em: 13 de jun. de 2023.
- BINOTTI, F. F. S.; HAGA, K. I.; CARDOSO E. D.; ALVES, C. Z.; SÁ, M. E.; ARF, O. efeito do período de envelhecimento acelerado no teste de condutividade elétrica e na qualidade fisiológica de sementes de feijão. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.30, n.2, p.247-254, 2008. Disponível em: <http://www.redalyc.org>.

org/pdf/3030/303026578014.pdf. Acesso em: 13 de jun. de 2023.

BRASIL. **Instrução Normativa nº44**, de 22 de novembro de 2016. Brasília: MAPA, 01 de dezembro de 2016, seção 1, p.8. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/INN44de22denovembrode2016.pdf>. Acesso em: 11 de jun. de 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Secretária de Defesa Agropecuária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: MAPA, 2009. 395 p. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf. Acesso em: 10 de jul. de 2018.

CARVALHO, M. V.; MORAES, P. I. C.; COELHO, S. V. B.; FIGUEIREDO, M. A.; VILELA, A. L. O.; SOUZA, A. C.; ROSA, S. D. V. F. Accelerated aging test for coffee seeds requires higher temperature. **AJCS**, v.17, n.6, p.:473-480. 2023. Disponível em: https://www.cropj.com/carvalho_17_6_2023_473_480.pdf. Acesso em: 18 de dez. de 2023.

COELHO, M.V.; SILVA, I. M. H. L.; SILVA, A. A. S.; PAZ, R. B. O.; ROCHA, D. I.; MACHADO, C; G.; SILVA, G. Z. Accelerated aging test in the determination of safflower seeds vigor. **Bioscience Journal**. 2022, 38, e38003. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/54228>. Acesso em: 18 de dez. de 2023.

DODE, J.; ALMEIDA, A. S.; DEUNER, C.; BORGES, C. T.; MENEGHELLO, G. E.; VILLELA, F. A.; MORAES, D. M. Atividade respiratória em sementes de trigo correlacionada com a qualidade fisiológica. **Bioscience Journal**, v.32, n.5, p.1246-1253, 2016. Disponível em: <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/33001>. Acesso em: 18 de dez. de 2023.

FENG, Z.; ZHU, H.; DENG, Q.; HE, Y.; LI, J.; YIN, J.; GAO, F.; HUANG, R.; LI, T. Environmental pollution induced by heavy metal(loid)s from pig farming. **Environmental Earth Sciences**, v.77, n.3, p.103-113, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12665-018-7300-2>. Acesso em: 05 de abr. de 2021.

GANG, A.; VYAS, A.; VYAS, H. Toxic effect of heavy metals on germination and seedling growth of wheat. **Journal of Environmental Research and Development**, v.8, n.2, p.206–213, 2013. Disponível em: <https://www.jerad.org/ppapers/download.php?vl=8&is=2&st=206>. Acesso em: 05 de abr. de 2021.

GIROTTO, E.; CERETTA, C. A.; ROSSATO, L.V.; FARIAS, J. G.; TIECHER, T. L.; CONTI, L.; SCHMATZ, R.; BRUNETTO, G.; SCHETINGER, M. R.; NICOLOSO, F. T. Triggered antioxidant defense mechanism in maize grown in soil with accumulation of Cu and Zn due to intensive application of pig slurry. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.93, n.1, p.145-155. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23669342/>. Acesso em: 05 de abr. de 2021.

HOLBIG, L. DOS S.; HARTER, F. S.; GALINA, S.; DEUNER, C.; VILLELA, F. A. Diferenças na qualidade física e fisiológica de sementes de aveia-preta e azevém comercializadas em duas regiões do Rio Grande do Sul. **Revista da FZVA**, v.18, n.2, p.70-80. 2011. Disponível em: <http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fzva/article/view/8987/7369>. Acesso em: 06 de fev. de 2016.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. CRC Press, Boca Ratón, Florida, 2011.

KAVAMURA, V.N.; ESPOSITO, E. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. **Biotechnology Advances**, v.28, n.1, p.61-69, 2010. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975009001530>. Acesso em: 06 de fev. de 2016.

LI, X.; JIANG, H.; LIU, F.; CAI, J.; DAI, T.; CAO W.; JIANG, D. Induction of chilling tolerance in wheat during germination by pre soaking seed with nitric oxide and gibberellin. **Plant Growth Regulation**, v.71, n.1, p.31–40, 2013. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10725-013-9805-8>. Acesso em: 10 de fev. de 2016.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-77, 1962. Disponível em: <https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/2/2/CS0020020176>. Acesso em: 05 de out. de 2016.

MAIA, A. R.; LOPES, J. C.; TEIXEIRA, C. de O. Efeito do envelhecimento acelerado na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.3, p.678-684, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542007000300012>. Acesso em: 05 de out. de 2016.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015. 659 p.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020.

MENEGAES, J. F.; SWAROWSKY, A.; BELLÉ, R. A.; BACKES, F. A.A. L. Desenvolvimento e potencial fitorremediador de espécies florícolas em resposta ao excesso de cobre no solo. **RAMA**, v. 13, n. 3, p. 1163-1183, 2020. Disponível em: <https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/rama/article/view/6739>. Acesso em: 08 de dez. de 2023.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020.

OHLSON, O. C.; KRZYZANOWSKI, F. C.; CAIEIRO, J. T.; PANOBIANCO, M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 32, n.4, p.118 - 124, 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222010000400013. Acesso em: 05 de set. de 2016.

OLIVEIRA, A. M. S.; NERY, M. C.; RIBEIRO, K. G; ROCHA, A. S.; CUNHA, P. T. Accelerated aging for evaluation of vigor in *Brachiaria brizantha* 'Xaraés' seeds. **Journal of Seed Science**, v.42, e202042006, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v42216691>. Acesso em: 08 de dez. de 2023.

PENA, L. B.; MÉNDEZ, A. A. E.; MATAYOSHI, C. L.; ZAWOZNIL, K, M. S.; GALLEGO, S. M. Early response of wheat seminal roots growing under copper excess. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.87, p.115-123, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0981942814003957>. Acesso em: 12 de set. de 2016.

POKORSKA-NIEWIADA, K.; RAJKOWSKA-MYŚLIWIEC, M.; PROTASOWICKI, M. Acute lethal toxicity of heavy metals to the seeds of plants of high importance to humans. **Bull Environ Contam Toxicol**, v.101, n.2, p.222-228, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6061449/>. Acesso em: 13 de nov. de 2023.

RAKLAMI, A.; OUBANE, M.; MEDDICH, A.; HAFIDI, M.; MARSCHNER, B.; HEINZE, S.; OUFDOU, K. Phytotoxicity and genotoxicity as a new approach to assess heavy metals effect on *Medicago sativa* L.: role of metallo-resistant rhizobacteria. **Environmental Technology & Innovation**, v.24, n.1, p.101833, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101833>. Acesso em: 13 de nov. de 2023.

SABERI, M.; SHAHRIARI, A.; TARNIAN, F. Investigation the Effects of Cadmium Chloride and Copper Sulfate on Germination and Seedling Growth of *Agropyron elongatum*. **Modern Applied Science**, v.5, n.5, p.232-243, 2011. Disponível em: <http://ccsenet.org/journal/index.php/mas/article/view/12499>. Acesso em: 12 de set. de 2016.

SCHEEREN, B. R.; PESKE, S. T.; SCHUCH, L. O. B.; BARROS, A. C. A. Qualidade fisiológica e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.3, p.35-41, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v32n3/v32n3a04.pdf>. Acesso em: 12 de set. de 2016.

SILVA, J. A. N. DA; SOUZA, C. M. A. DE; SILVA, C. J. DA; BOTTEGA, S. P. Crescimento e produção de espécies forrageiras consorciadas com pinhão-mansão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.6, p.769-775, 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2012000600006. Acesso em: 10 de set. de 2016.

SOARES, M. M.; SANTOS JUNIOR, H. C.; SIMÕES M. G.; PAZZIN, D.; SILVA, L. J.. Estresse hídrico e salino em sementes de soja classificadas em diferentes tamanhos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, vol.45, n.4, p.370-378. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pat/v45n4/1517-6398-pat-45-04-0370.pdf>. Acesso em: 12 de set. de 2016.

- SOUZA, S. A. DE; NAKAGAWA, J.; MACHADO, C. G. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de aveia-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.2, p.155-163, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v31n2/v31n2a18.pdf>. Acesso em: 02 de ago. de 2016.
- STEFANELLO, R.; VIANA, B. B., GOERGEN, P. C. H., NEVES, L. A. S., NUNES, U. R. Germination of chia seeds submitted to saline stress. **Brazilian Journal of Biology**, v.80, n.2, p.285-289, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/CSgvpw3dBhZ4F8PD6cVZFMK/?lang=en>. Acesso em: 13 de nov. de 2023.
- TAYLOR, G. J.; STADT, K. J.; DALE, M. R. T. Modelling the phytotoxicity of aluminum, cadmium, copper, manganese, nickel, and zinc using the Weibull frequency distribution. **Canadian Journal of Botany**, v.69, n.2, p.359-367, 1990. Disponível em: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/b91-049#.WJdw5BsrKM8>. Acesso em: 10 de set. de 2016.
- VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. **Teste de condutividade elétrica**. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 2020.
- WANG, X.; HUANG, M.; ZHOU, Q.; CAI, J.; DAI, T.; CAO, W.; JIANG, D. Physiological and proteomic mechanisms of waterlogging priming improves tolerance to waterlogging stress in wheat (**Triticum aestivum** L.). **Environmental and Experimental Botany**, v.132, p. 175-182, 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098847216301903>. Acesso em: 08 de set. de 2016.
- YE, N.; LI, H.; ZHU, G.; LIU, Y.; LIU, R.; XU, W.; JING, Y.; PENG, X.; ZHANG, J. Copper suppresses abscisic acid catabolism and catalase activity, and inhibits seed germination of rice. **Plant and Cell Physiology**, v.55, n.11, p.2008-2016, 2014. Disponível em: <https://academic.oup.com/pcp/article-lookup/doi/10.1093/pcp/pcu136>. Acesso em: 10 de set. de 2016.
- YRUELA, I. Copper in plants: Acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v.36, n.5, p.409-130, 2009. Disponível em: <http://www.publish.csiro.au/fp/FP08288>. Acesso em: 05 de ago. de 2016.
- ZANCHETA, A. C. F.; ABREU, C. A. DE; ZAMBROSI, F. C. B.; ERISMANN, N. DE M.; LAGÔA, A. M. M. A. Fitoextração de cobre por espécies de plantas cultivadas em solução nutritiva. **Bragantia**, v.70, n.4, p.737-744, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0006-87052011000400002&script=sci_abstract. Acesso em: 10 de jul. de 2015.