



Adequação do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do vigor de sementes de leucena

Fernando dos Santos Araújo¹, Francival Cardoso Félix², Cibele dos Santos Ferrari²,
Riselane de Lucena Alcântara Bruno¹, Mauro Vasconcelos Pacheco²

¹ Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias - Campus II, Laboratório de Análise de Sementes/DFCA, Campus universitário, CEP 58397-000, Areia-PB, Brasil. Caixa Postal 07. E-mail: nandosantos005@hotmail.com; lane@cca.ufpb.br

² Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias, RN 160, km 03, Distrito de Jundiá, CEP 59280-000, Macaíba-RN, Brasil. Caixa Postal 07. E-mail: francival007@gmail.com; cibeferrari@hotmail.com; pachecomv@hotmail.com

RESUMO

Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit. (Fabaceae) é uma leguminosa arbórea indicada para a composição de sistemas agroflorestais e alimentação de animais em regiões de clima semiárido. Dada sua importância, objetivou-se com este estudo adequar a metodologia do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do vigor das sementes. Para tanto, procederam-se a execução de testes de envelhecimento acelerado à temperatura de 41 °C durante 0, 48, 72 e 96 h em lotes de sementes, com avaliação da porcentagem de germinação pós-envelhecimento e correlação simples com as variáveis germinação, primeira contagem, velocidade de germinação, condutividade elétrica e emergência de plântulas. Após 48 h de envelhecimento não foi constatada diferença na porcentagem de germinação das sementes dos lotes, e apenas o período de exposição de 96 h apresentou correlação significativa com o teste de emergência de plântulas. O teste de envelhecimento acelerado conduzido a 41 °C durante 96 h é eficiente para diferenciar lotes de sementes de *L. leucocephala* em níveis de vigor.

Palavras-chave: *Leucaena leucocephala*; qualidade fisiológica; sementes florestais; semiárido

Adequacy of the accelerated aging test to evaluate the vigor in leucena seeds

ABSTRACT

Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit. (Fabaceae) is an arboreal species suitable for the composition of agroforestry systems and animal feeding in semiarid climates. Given its importance, the aim of this study was to adapt the methodology of the accelerated aging test to evaluate the vigor of *L. leucocephala* seeds. To this end, they proceeded to implementation of accelerated aging at 41 °C for 0, 48, 72 and 96 h in seed lots, with evaluation of the percentage of post aging germination and simple correlation with the variables germination, first count, speed of germination, electrical conductivity and seedling emergence. After 48 h of aging was no difference found on the percentage of germination of the lots, and only the 96 h exposure period showed a significant correlation with the seedling emergence test. The accelerated aging test conducted at 41 °C for 96 h is effective to differentiate lots of *L. leucocephala* seeds in vigor levels.

Key words: *Leucaena leucocephala*; physiological quality; forest seeds; semiarid

Introdução

Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit. (Fabaceae) é uma espécie arbórea originária da América Central cultivada como planta forrageira, mas que reúne vários atributos típicos de espécies invasoras (Melo-Silva et al., 2014). No Brasil, a espécie é popularmente conhecida como leucena (Fonseca & Jacobi, 2011) e indicada para composição de sistemas agroflorestais (Pereyra et al., 2015), principalmente em regiões de clima semiárido (Walker, 2012), devido ao seu rápido crescimento e alto valor nutricional de minerais e proteínas (Crawford et al., 2015).

Na região semiárida do Nordeste do Brasil, onde existem limitações para a agricultura dependente de chuva, o desenvolvimento e o manejo dessa espécie vão ao encontro dos interesses do setor agropecuário, no qual os benefícios oferecidos pela espécie são maiores que os riscos de se tornar invasora. De acordo Drumond & Ribaski (2010), existem informações técnicas para manejar a espécie para exploração de forragem, bem como controlá-la em áreas invadidas.

Como a propagação de *L. leucocephala* é realizada principalmente por via sexuada (Dalmolin et al., 2011), torna-se relevante estudar os aspectos de qualidade das sementes para subsidiar programas de produção de sementes destinadas à formação de novas áreas para produção de forragem.

O teste padrão utilizado para avaliação da qualidade fisiológica de sementes é o teste de germinação, cuja metodologia está prescrita nas Regras para Análises de Sementes para várias espécies cultivadas e algumas florestais, incluindo a *L. leucocephala* (Brasil, 2009). Este teste é realizado em condições ideais de forma a se obter a máxima porcentagem de germinação, entretanto, não verifica o potencial fisiológico das sementes sob condições desfavoráveis de germinação, como as normalmente encontradas em campo (Carvalho & Nakagawa, 2012). É por esta razão que têm sido desenvolvidos e aprimorados vários testes de vigor com o objetivo de complementar os resultados obtidos no teste de germinação.

Entre os vários testes de vigor existentes, o envelhecimento acelerado é um dos mais difundidos devido à sua precisão e sensibilidade em detectar diferenças de qualidade entre lotes de sementes com germinação semelhante (Pereira et al., 2015). Esse teste avalia a resistência das sementes após um período de exposição à alta temperatura e umidade relativa do ar (Marcos Filho, 2015), os quais induzem reações oxidativas nos constituintes celulares da semente (Menezes et al., 2014) e resultam na redução da velocidade e porcentagem de germinação, assim como o aumento da formação de plântulas anormais (Marcos Filho, 2015).

Dessa forma, os lotes de sementes que mantêm elevada germinação após serem submetidos ao envelhecimento acelerado, são considerados de alto vigor quando comparado aqueles que tem sua viabilidade reduzida (Pereira et al., 2012).

Desenvolvido originalmente para avaliação de sementes de plantas cultivadas como milho e soja (AOSA, 1983), a metodologia do teste de envelhecimento acelerado vem sendo adaptada para sementes de espécies florestais. A adequação da metodologia do teste para sementes de algumas espécies

arbóreas da família Fabaceae como *Bauhinia forficata* Link (Guareschi et al., 2015), *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. (Guedes et al., 2011) e *Erythrina velutina* Willd. (Guedes et al., 2009) tem demonstrado que esse teste também é promissor para auxiliar na avaliação do vigor de sementes florestais.

É usual entre trabalhos de adequação de testes de vigor, a utilização do teste de emergência de plântulas como um comparativo da eficiência do teste em questão, uma vez que o teste de emergência é aquele no qual a semente é submetida às condições mais próximas daquelas de campo. Dentre os critérios de avaliação da confiabilidade de um determinado teste para avaliação da qualidade de sementes de diferentes lotes, a correlação dos resultados desse teste com os de emergência em campo é um dos mais utilizados (Marcos Filho, 1999).

Dada a importância atual e potencial de *L. leucocephala* para o setor agropecuário no semiárido do Brasil, espera-se que a demanda por sementes aumente, justificando assim a prospecção de métodos rápidos e eficientes para avaliar a qualidade fisiológica das sementes dessa espécie. Assim, objetivou-se, com este estudo, adequar a metodologia do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do vigor das sementes de *L. leucocephala*.

Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) pertencente ao Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), em Areia, Paraíba, Brasil.

As sementes de *L. leucocephala* utilizadas no estudo foram obtidas de três procedências do Estado da Paraíba: os lotes 1, 2 e 3 foram provenientes, respectivamente, dos municípios de Areia (6°57'59,5"S e 35°42'51,9"W), Lagoa Seca (7°09'21,2"S e 35°52'54,3"W) e Esperança (6°59'33,6"S e 35°50'01,9"W). A coleta das sementes foi realizada em indivíduos de ocorrência natural que apresentavam frutos com coloração parda e sinais de abertura espontânea. O beneficiamento consistiu na abertura manual das vagens para extração das sementes, selecionando-se aquelas visivelmente sadias e descartando-se as que apresentaram sinais de má formação e predação por insetos. As sementes de cada procedência foram homogeneizadas e colocadas para secar ao sol durante 72 h e, em seguida, acondicionadas em embalagem permeável (sacos de papel) e armazenadas em ambiente controlado (20±2 °C e UR 64%). As sementes dos lotes 2 e 3 permaneceram nessas condições por 92 dias, enquanto o lote 1 foi coletado e beneficiado sete dias antes da instalação do ensaio.

Com a finalidade de caracterizar a qualidade inicial dos lotes para posterior comparação com os resultados fornecidos pelo teste de envelhecimento acelerado, as sementes de cada lote foram submetidas à determinação do grau de umidade, ao teste de germinação e aos testes de vigor de primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, condutividade elétrica e emergência de plântulas.

O grau de umidade foi determinado pelo método da estufa a 105 ± 3 °C, por 24 h (Brasil, 2009), com duas sub amostras de 50 sementes de cada lote.

Para o teste de germinação, quatro sub amostras de 50 sementes de cada lote foram submetidas ao tratamento de escarificação química com ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 a 98%) por 20 min para superação da dormência física (Teles et al., 2000). Em seguida, foram semeadas sobre duas folhas de papel mata-borrão fixadas dentro de caixas de acrílico transparentes do tipo “gerbox” e cobertas, posteriormente, com uma camada adicional de papel toalha (Brasil, 2009). Todo papel utilizado foi esterilizado e umedecido com água destilada na proporção equivalente a 2,5 vezes seu peso seco. No 10º dia após a semeadura foi computada a porcentagem de plântulas normais (Brasil, 2009).

Os testes de primeira contagem e velocidade de germinação foram realizados em conjunto com o teste de germinação. No teste de primeira contagem, computou-se a porcentagem de plântulas normais no 5º dia após a semeadura (Brasil, 2009). Para a velocidade de germinação, foi realizada a contabilização diária de sementes germinadas até o 10º dia após a semeadura, sendo os resultados utilizados para calcular o índice de velocidade de germinação proposto por Maguire (1962).

Para o teste de condutividade elétrica (CE), quatro sub amostras de 50 sementes de cada lote foram pesadas em balança analítica de precisão e colocadas para embeber em 50 mL de água deionizada por um período de 24 horas, em temperatura de 25 °C. Após esse período, foi realizada a leitura da condutividade elétrica da solução de embebição ($\mu S\ cm^{-1}\ g^{-1}$ de semente) utilizando-se um condutivímetro de bancada (Tecnal® modelo TEC-4MP).

A emergência de plântulas foi realizada utilizando-se quatro sub amostras de 50 sementes de cada lote que também foram submetidas ao tratamento para superação da dormência física. Em seguida, foram semeadas a 1,5 cm de profundidade em bandejas plásticas preenchidas com areia umedecida. A areia foi previamente peneirada, lavada, esterilizada em autoclave e umedecida com água da rede pública de abastecimento local. No 12º dia após a semeadura foi computada a porcentagem de plântulas normais. Esse teste foi conduzido em ambiente protegido com teto semicircular em aço galvanizado coberto com filme de polietileno e laterais com tela plástica de malha fina de cor branca. Os valores médios mais o desvio padrão dos dados de temperatura e umidade relativa do ar durante este teste foram de $33 \pm 2\ ^\circ C$ e $67 \pm 3\ %$, respectivamente.

Após a caracterização fisiológica dos lotes, procedeu-se a etapa de adequação da metodologia do teste de envelhecimento acelerado. Para tanto, foi adaptada a metodologia do “gerbox” (mini câmara) adotado pela AOSA (1983). Inicialmente foram colocados 40 mL de água destilada no fundo de uma caixa “gerbox”. Em seguida, amostras de sementes de cada lote foram distribuídas sobre uma bandeja com fundo de tela acoplada no interior da caixa a uma distância de 1,5 cm da água. As caixas foram tampadas e colocadas em uma câmara de germinação (tipo B.O.D. – Biochemical Oxygen Demand – Modelo TE-4012), regulada à temperatura de 41 °C, com oscilação máxima de $\pm 0,3\ ^\circ C$, durante 48, 72 e 96 h, além do controle (0 h – sementes sem envelhecimento). Para minimizar a oscilação térmica na câmara de germinação, esta foi mantida em sala climatizada a 21 °C. As sementes envelhecidas, bem como aquelas do tratamento controle (0 h), foram submetidas

à determinação do grau de umidade e ao teste de germinação exatamente como foi realizado na caracterização fisiológica.

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado tanto para a caracterização fisiológica dos lotes quanto para adequação da metodologia, sendo esta última em esquema fatorial 3x4 (lote x tempo de envelhecimento) com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos fatores quantitativos do teste de envelhecimento acelerado foram submetidas à análise de regressão linear, enquanto as médias dos fatores qualitativos foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Também foram calculados os coeficientes de correlação simples de Pearson (r) entre variáveis, sendo a significância dos valores de r determinada pelo teste t a 1 e 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas por meio do software estatístico Assistat (versão 7.7 beta) (Silva & Azevedo, 2002).

Resultados e Discussão

O grau de umidade inicial dos lotes de sementes de *L. leucocephala* variou de 10,9 a 12,3% (Tabela 1), com diferença inferior a 2% entre lotes. Esse é um requisito importante para realização de testes de vigor, pois para obtenção de resultados consistentes é necessário que o grau de umidade dos lotes esteja padronizado e não ultrapasse 2% de diferença (Silva et al., 2010), e deve estar abaixo de 13% para evitar deterioração das sementes durante o armazenamento (Guareschi et al., 2015).

Os lotes de sementes de *L. leucocephala* apresentaram o mesmo desempenho fisiológico quando avaliados pelos testes de germinação, primeira contagem e velocidade de germinação, pois não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os resultados desses testes. Foi verificado desempenho distinto entre os lotes apenas quando foram avaliados pelos testes de emergência e condutividade elétrica.

Os testes de condutividade elétrica e emergência de plântulas se sobressaíram em relação aos demais na detecção de diferenças de vigor entre os lotes, pois são capazes de verificar as primeiras manifestações de deterioração das sementes (Marcos Filho, 1999). Segundo Bewley et al. (2013), a redução do percentual de emergência de plântulas é um reflexo do processo de envelhecimento natural das sementes que está relacionado aos danos no sistema de biomembranas.

Os resultados do teste de condutividade elétrica permitiram classificar os lotes de sementes em dois níveis de vigor. O

Tabela 1. Valores médios do grau de umidade, germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação, condutividade elétrica e emergência de plântulas de três lotes de sementes de *L. leucocephala*.

Testes	Lotes			CV (%)	D.M.S.
	1	2	3		
Grau de umidade (%)	12,3	10,9	11,3	-	-
Germinação (%)	90,0 a	84,0 a	88,0 a	8,22	14,18
Primeira contagem (%)	55,0 a	53,0 a	62,0 a	21,88	24,49
Índice de velocidade de germinação	4,83 a	4,54 a	4,95 a	10,31	0,97
Condutividade elétrica ($\mu S\ cm^{-1}\ g^{-1}$)	57,2 a	76,3 b	70,3 ab	13,52	18,14
Emergência de plântulas (%)	94,0 a	65,0 b	89,0 a	12,75	20,81

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados do grau de umidade não foram analisados estatisticamente.

lote 1, por apresentar os menores valores de CE ($57,2 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) foi classificado como de alto vigor em relação aos demais e o lote 2 com o maior valor de CE ($76,3 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) foi classificado como o de baixo vigor. O lote 3 apresentou valor de CE intermediário ($70,3 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$), não diferindo dos demais.

A avaliação do vigor baseada no teste de emergência de plântulas permitiu classificar os lotes em dois níveis de vigor. As sementes dos lotes 1 e 3 foram classificadas como de maior vigor (94 e 89%, respectivamente) e as sementes do lote 2 (65%) foram classificadas como de menor vigor (Tabela 1).

A análise de regressão linear realizada para os períodos de envelhecimento acelerado mostrou que a germinação das sementes dos diferentes lotes foi influenciada pelo tempo de envelhecimento acelerado (Figura 1). A porcentagem de germinação do lote 1 aumentou de forma linear com o aumento do tempo de exposição, enquanto a dos lotes 2 e 3, decresceu linearmente.

Esse resultado mostrou que as sementes dos lotes 2 e 3 têm sua germinação reduzida em comparação ao lote 1 com o aumento do período de envelhecimento acelerado. O lote 1 foi classificado como de alto vigor tanto no teste de emergência quanto no teste de condutividade elétrica e mostrou-se mais tolerante ao envelhecimento acelerado que os demais, o que demonstra sua melhor qualidade fisiológica. Isso por que lotes de sementes mais vigorosas possuem mecanismos mais eficientes de reparo, principalmente devido à ação de moléculas antioxidantes, como as peroxidases, a superóxido dismutase e a catalase (Marcos Filho, 2015).

Contudo, o aumento da porcentagem de germinação do lote 1 também pode ser atribuído à superação da dormência fisiológica promovida pelo envelhecimento, pois como esse lote era recém coletado, é provável que sementes imaturas estivessem presentes. Esse acréscimo na porcentagem de germinação após o envelhecimento acelerado também foi verificado em sementes recém coletadas de outras espécies de Fabaceae como *Anadenanthera falcata* (Benth.) Speng (Stallbaun et al., 2015) e *B. forficata* (Guareschi et al., 2015), corroborando com os resultados desta pesquisa. Em relação ao grau de umidade das sementes após o envelhecimento acelerado, observou-se um aumento médio de 32% após 48 h de

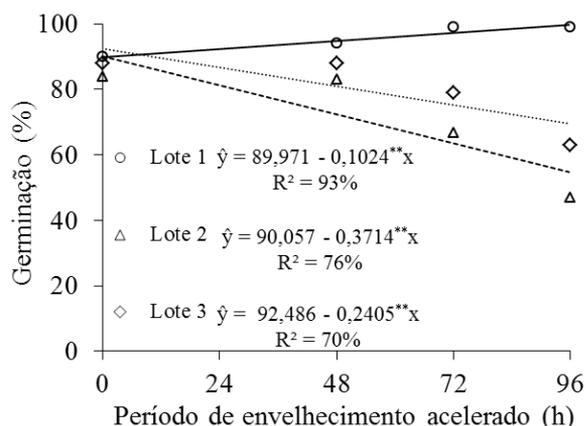


Figura 1. Germinação de sementes de três lotes de *L. leucocephala* submetidos a diferentes períodos de exposição ao envelhecimento acelerado. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

envelhecimento, porém nos períodos de 48 e 96 h o incremento no conteúdo de água foi de 19 e 22%, respectivamente (Tabela 2). Ao analisar a variação do grau de umidade entre os lotes em cada período de envelhecimento, constatou-se que houve uma variação inferior a 4%. Essa variação permitiu inferir que o envelhecimento acelerado se deu de maneira semelhante para todos os lotes avaliados, pois variações de 3 a 4% entre amostras são consideradas toleráveis (Marcos Filho, 1999).

Variações acentuadas de aumento e diminuição no grau de umidade são observadas em sementes submetidas ao envelhecimento artificial devido à existência de diferenças de adsorção de água durante a condução do teste (Pereira et al., 2015). No entanto, essa variação deve ser minimizada entre lotes para evitar deterioração excessiva durante o processo germinativo, principalmente para as sementes de médio e baixo vigor (Tekrony, 2003).

Após 48 h de envelhecimento não foi constatada diferença estatística significativa entre as porcentagens de germinação das sementes dos lotes (Tabela 3), porém, com 72 h, a germinação das sementes do lote 1 (99%) mostrou-se significativamente superior à dos lotes 2 (66%) e 3 (79%) que não diferiram entre si. Após 96 h de envelhecimento, a germinação das sementes do lote 1 (99%) continuou superior aos demais, seguida dos lotes 3 (63%) e 2 (47%), respectivamente.

Dentre os testes de laboratório utilizados para avaliar a caracterização fisiológica dos lotes, apenas o teste de condutividade elétrica se correlacionou significativamente com o teste de emergência. Essa correlação foi moderada e negativa (-0,659) (Tabela 4), indicando que quanto menor os valores de CE, maior será a porcentagem de emergência de plântulas. Além disso, sua correlação com os testes de envelhecimento acelerado por 72 e 96 horas foi significativa e considerada forte (-0,7449 e -0,7512 respectivamente).

Quanto ao teste de envelhecimento acelerado, apenas o período de exposição de 96 h apresentou correlação significativa, o qual mostrou alta correlação positiva (0,751) com o teste de emergência, indicando que esses testes possuem um alto grau de associação.

Tabela 2. Grau de umidade de sementes de três lotes de *L. leucocephala* em função dos períodos de exposição ao envelhecimento acelerado.

Lote	Tempo de envelhecimento acelerado (h)			
	0	48	72	96
	Grau de umidade (%)			
1	12	41	30	34
2	10	42	32	33
3	11	45	29	32
Média	11	43	30	33

Tabela 3. Porcentagem de germinação de sementes de três lotes de *L. leucocephala* em função dos períodos de exposição ao envelhecimento acelerado.

Lote	Tempo de envelhecimento acelerado (h)			
	0	48	72	96
	Germinação (%)			
1	90a	94a	99 a	99 a
2	84a	83a	66 b	47 c
3	88a	88a	79 b	63 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. Correlação simples de Pearson (r) entre as variáveis germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), índice de velocidade de germinação (IVG), emergência de plântulas (E), condutividade elétrica (E) e envelhecimento acelerado (EA) por 48, 72 e 96 horas.

	G	IVG	E	CE	EA48	EA72	EA96
PC	0,2674 ^{ns}	0,8178 ^{**}	0,1248 ^{ns}	0,1908 ^{ns}	0,6197 [*]	-0,0718 ^{ns}	-0,0634 ^{ns}
G		0,7457 ^{**}	0,2848 ^{ns}	0,0211 ^{ns}	0,3491 ^{ns}	0,1864 ^{ns}	0,5038 ^{ns}
IVG			0,3161 ^{ns}	0,0738 ^{ns}	0,5679 ^{ns}	0,0765 ^{ns}	0,2716 ^{ns}
E				-0,6595 [*]	0,4478 ^{ns}	0,5332 ^{ns}	0,7551 ^{**}
CE					0,2810 ^{ns}	-0,7449 [*]	-0,7512 [*]
EA48						0,4053 ^{ns}	0,4442 ^{ns}
EA72							0,8270 ^{**}
EA96							

^{ns} não significativo, ^{**} e ^{*} significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade respectivamente.

Os resultados mostraram que o teste de envelhecimento acelerado conduzido pelo método do gerbox por 96 h se mostrou adequado para estimar o vigor de lotes de sementes de *L. leucocephala* de forma semelhante ao teste de emergência de plântulas. Isso indica que o teste de envelhecimento tem potencial para ser utilizado na identificação de diferenças de vigor entre lotes de sementes de *L. leucocephala* que apresentam desempenho semelhante no teste padrão de germinação, além de poder estimar o desempenho das sementes em campo.

A adequação da metodologia do teste de envelhecimento acelerado também se mostrou eficiente para detectar diferenças de vigor de sementes de outras leguminosas arbóreas como *B. forficata* a 41 °C/ 72 h (Guareschi et al., 2015), *D. nigra* a 41 e 45 °C/ 72 h (Guedes et al., 2011) e *E. velutina* a 41 °C/ 72 h e 45 °C/ 24 h (Guedes et al., 2009).

Conclusão

O teste de envelhecimento acelerado conduzido a 41 °C durante 96 h é eficiente para diferenciar lotes de sementes de *L. leucocephala* em níveis de vigor.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão das bolsas de Doutorado, do Programa Nacional de Pós-Doutorado (PNPD Processo 1409948) e de Pós-Doutorado no Exterior (Programa Ciência sem Fronteiras - Processo BEX 1959/14-0) ao primeiro, terceiro e quinto autor, respectivamente.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Rio Grande do Norte (FAPERN), pelo apoio financeiro (Processo 88887.100674/2015-01- Edital 006/2014).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de iniciação científica ao segundo autor (Processo PVI10596-2014).

Literatura Citada

Association of Official Seed Analysts - AOSA. Seed vigor testing handbook. East Lansing: AOSA, 1983. 93p.

Bewley, J.D.; Bradford, K. J.; Hilhorst, H.W.M.; Nonogaki, H. Seeds – physiology of development, germination and dormancy. 3.ed. New York: Springer, 2013. 392p.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.

Carvalho, N. M.; Nakagawa, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.

Crawford, G.; Puschner, B.; Affolter, V.; Stalis, I.; Davidson, A.; Baker, T.; Tahara, J.; Jolly, A.; Ostapak, S. Systemic effects of *Leucaena leucocephala* ingestion on ringtailed lemurs (*Lemur catta*) at Berenty Reserve, Madagascar. American Journal of Primatology, v.77, n.6, p.633-641, 2015. <http://dx.doi.org/10.1002/ajp.22386>.

Dalmolin, M.F.S. da; Malavasi, U.C.; Malavasi, M.M. Dispersão e germinação de sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit na região oeste do Paraná. Semina: Ciências Agrárias, v.32, n.1, p.355-362,2011. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n1p355>.

Drumond, M.A.; Ribaski, J. Leucena (*Leucaena leucocephala*): leguminosa de uso múltiplo para o semiárido brasileiro. Petrolina. Embrapa Semiárido, 2010. 8p. (Comunicado técnico, 142). <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/880169/1/CT262.pdf>. 22 Jun. 2016.

Fonseca, N. G. da; Jacobi, C. M. Desempenho germinativo da invasora *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. e comparação com *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. e *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw. (Fabaceae). Acta Botanica Brasilica, v.25, n.1, p.191-197, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062011000100022>.

Guareschi, D.G.; Lanzarini, A.C.; Lazarotto, M.; Gonzatto, C.; Barbieri, G. Envelhecimento acelerado de sementes e qualidade de plântulas de *Bauhinia forficata* Link em diferentes substratos e tamanhos de tubetes. Revista Agro@mbiente On-line, v.9, n.1, p.65-71, 2015. <http://dx.doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v9i1.2175>.

Guedes, R.S.; Alves, E.U.; Gonçalves, E.P.; Viana, J.S.; Bruno, R.L.A.; Colares, P.N.Q. Physiological response of *Erythrina velutina* Willd. Seeds to accelerated aging. Semina: Ciências Agrárias, v.30, n.2, p.323-330, 2009. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2009v30n2p323>.

Guedes, R.S.; Alves, E.U.; Oliveira, L.S.B.; Andrade, L.A.; Gonçalves, E. P.; Melo, P.A.R.F. Accelerated aging in evaluating the quality of seed physiology of *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. Semina: Ciências Agrárias, v.32, n.2 p.443-450, 2011. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n2p443>.

Maguire, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science, v.2, n.1, p.176-177, 1962. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>.

- Marcos Filho, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 2015. 660p.
- Marcos Filho, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: Krzyzanowski, F. C.; Vieira, R. D.; França-Neto, J. B. (Eds.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. cap.3, p.1-24.
- Melo-Silva, C.; Peres, M.P.; Mesquita Neto, J.N.; Gonçalves, B.B.; Leal, I.A.B. Biologia reprodutiva de *L. leucocephala* (Lam.) R. de Wit (Fabaceae: Mimosoideae): sucesso de uma espécie invasora. *Neotropical Biology and Conservation*, v.9, n.2, p.91-97, 2014. <https://doi.org/10.4013/nbc.2014.92.03>.
- Menezes, V. O.; Lopes, S. J.; Tedesco, S. B.; Henning, F. A.; Zen, H. D.; Mertz, L.M. Cytogenetic analysis of wheat seeds submitted to artificial aging stress. *Journal of Seed Science*, v.36, n.1, p.71-78, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S2317-15372014000100009>.
- Pereira, M. D.; Martins Filho, S.; Laviola, B. G. Envelhecimento acelerado em sementes de pinhão-mansão. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.42, n.1, p.119-123, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1983-40632012000100017>.
- Pereira, M.F.S.; Torres, S.B.; Linhares, P.C.F. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico em sementes de coentro. *Semina: Ciências Agrárias*, v.36, n.2, p.595-606, 2015. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n2p595>.
- Pereyra, G.; Hartmann, H.; Michalzik, B.; Ziegler, W.; Trumbore, S. Influence of rhizobia inoculation on biomass gain and tissue nitrogen content of *Leucaena leucocephala* seedling under drought. *Forests*, v.6, n.10, p.3686-3703, 2015. <http://dx.doi.org/10.3390/f6103686>.
- Silva, C.B.; Pivetta, K.F.L.; Oliveira, C.A.V.M. de; Rodrigues, M.A.; Vieira, R.D. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de grama-bermuda. *Revista Brasileira de Sementes*, v.32, n.2, p.102-107, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000200012>.
- Silva, F. A. S.; Azevedo, C. A. V. Versão do programa computacional Assisat para o sistema operacional Windows. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, v.4, n.1, p.71-78, 2002. <http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev41/Art410.pdf>. 10 Jun. 2016.
- Stallbaun, P.H.; Souza, P.A.; Martins, R.C.C.; Matos, J.M.M.; Moura, T.M. Testes rápidos de vigor para avaliação da viabilidade de sementes de *Anadenanthera falcata*. *Enciclopédia Biosfera*, v.11 n.21, p. 1.834-1.846, 2015. <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2015b/agrarias/testes%20rapidos%20de%20vigor.pdf>. 05 Jul. 2016.
- Tekrony, D. M. Precision is an essential component in seed vigor testing. *Seed Science and Technology*, v.31, n.2, p.435-447, 2003. <http://dx.doi.org/10.15258/sst.2003.31.2.20>.
- Teles, M. M.; Alves, A. A.; Oliveira, J. C. G. de; Bezerra, A. M. E. Métodos para quebra da dormência em sementes de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.2, 387-391, 2000. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982000000200010>.
- Walker, K.P. Fodder potential of leaves and pods of planted *Leucaena diversifolia* and *L. leucocephala* species in semiarid Botswana. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, v.2, n.10, p.445-450, 2012. <http://www.interesjournals.org/full-articles/fodder-potential-of-leaves-and-pods-of-planted-leucaena-diversifolia-and-leucocephala-species-in-semi-arid-botswana.pdf?view=inline>. 22 Jun. 2016.