

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

NÚBIA ALMEIDA LEITE BRANDÃO

**REPETIBILIDADE E REPRODUTIBILIDADE NA VALIDAÇÃO DE
METODOLOGIAS PARA TESTES DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
ESPÉCIES LENHOSAS NATIVAS**

**Uberlândia – MG
Outubro – 2010**

NÚBIA ALMEIDA LEITE BRANDÃO

**REPETIBILIDADE E REPRODUTIBILIDADE NA VALIDAÇÃO DE
METODOLOGIAS PARA TESTES DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
ESPÉCIES LENHOSAS NATIVAS**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de Agronomia, da
Universidade Federal de Uberlândia,
para obtenção do grau de Engenheiro
Agrônomo.

Orientador: Denise Garcia de Santana

**Uberlândia – MG
Outubro – 2010**

NÚBIA ALMEIDA LEITE BRANDÃO

**REPETIBILIDADE E REPRODUTIBILIDADE NA VALIDAÇÃO DE
METODOLOGIAS PARA TESTES DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
ESPÉCIES LENHOSAS NATIVAS**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de Agronomia, da
Universidade Federal de Uberlândia,
para obtenção do grau de Engenheiro
Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 17 de dezembro de 2010.

Ms. Maristela Rosália Anastácio
Membro da Banca

Ms. Quintiliano Siqueira Schroden Nomelini
Membro da Banca

Prof. Dr. Denise Garcia de Santana
Orientador

RESUMO

A validação de metodologias padroniza procedimentos e garantem a repetibilidade e reprodutibilidade dos resultados. Espécies cultivadas possuem metodologias validas para testes de germinação de sementes amplamente descritas, porém são quase inexistentes para espécies lenhosas nativas. Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar a repetibilidade e a reprodutibilidade de laboratórios no processo de validação de metodologias para teste de germinação de sementes de espécies lenhosas nativas. Protocolos contendo metodologias para testes de germinação de dez espécies florestais foram enviados para laboratórios (entre 11 e 12) juntamente com quatro lotes de qualidade de germinação distintas para avaliarem a porcentagem de plântulas normais. Foram calculadas as variâncias de repetibilidade e reprodutibilidade e as estatísticas k e h de Mandel. As variâncias de repetibilidade foram menores em lotes de melhor qualidade, com exceção em *Pterogyne nitens* que apresentou menor variância de repetibilidade no lotes de baixa qualidade. As variâncias de reprodutibilidade foram menores em lotes de alta e de baixa qualidade, apenas *Peltophorum dubium* apresentou variância de reprodutibilidade menor em um lote intermediário. As variâncias de reprodutibilidade foram maiores que as variâncias de repetibilidade em quase todos os lotes, somente nos lotes de número 2 de *Guazuma ulmifolia* e de *Mimosa caesalpiniaefolia* a variância de repetibilidade foi superior a variância de reprodutibilidade.

Palavras chave: Análise estatística, programas interlaboratoriais, estatística k e h de Mandel, controle de qualidade de laboratórios.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO -----	5
2	REVISÃO DE LITERATURA -----	7
2.1	A situação atual das espécies florestais nativas -----	7
2.2	Repetibilidade e reprodutibilidade em processos de validação -----	8
2.3	Repetibilidade e reprodutibilidade de metodologias validadas -----	10
3	MATERIAL E MÉTODOS -----	13
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	18
5	CONCLUSÕES -----	26
	REFERÊNCIAS -----	27

1 INTRODUÇÃO

A qualidade fisiológica das sementes tem sido rotineiramente avaliada pelo teste de germinação, cujo aprimoramento constante da metodologia resultou num alto nível de confiabilidade e reprodutibilidade (PERRY, 1981). A reprodutibilidade é o principal requisito para um teste destinado à avaliação da qualidade de sementes por permitir a comparação consistente dos resultados (HAMPTON; TEKRONY, 1995). A padronização da metodologia e a interpretação dos resultados também são aspectos fundamentais (DELOUCHE, 1976).

Metodologias padronizadas são amplamente descritas para germinação de sementes de espécies cultivadas e quase inexistentes para as espécies florestais tropicais nativas. Embora as espécies florestais apresentem particularidades inerentes aos seus locais de ocorrência e grande variabilidade genética, há um amplo conhecimento registrado nos artigos científicos sobre germinação. No entanto, a falta de um processo sistemático de validação dessas metodologias limita a inclusão dessas espécies em documentos oficiais de análise de sementes. Procedimentos de validação têm sido relatados pela Associação Internacional para Teste de Sementes (ISTA, 2007), mas nas Regras para Análise de Sementes, recentemente publicadas (BRASIL, 2009), grande parte das metodologias é para espécies florestais de clima temperado.

No processo de validação, estatísticas utilizadas na avaliação da qualidade de laboratórios são aplicadas e servem como ferramenta para detectar as variabilidades existentes. Para quantificar essas variabilidades, a Sociedade Americana para Ensaio de Materiais (ASTM E691/92) recomenda a técnica gráfica (estatísticas k e h Mandel), enquanto a Organização Internacional de Padrões (ISO 5725-2, 1994) recomenda tanto a técnica gráfica como as numéricas por meio das estatísticas de Cochran e Grubbs. A estatística h de Mandel identifica os laboratórios que estão superestimando (h positivos) ou subestimando (h negativos) valores em comparação com a média de todos os laboratórios. A estatística k de Mandel analisa a variabilidades dos resultados de cada laboratório para cada lote (ISTA, 2007), apontando laboratórios que não possuíram repetibilidade. Essas estatísticas aplicadas aos testes laboratoriais estabelecem valores críticos e garantem a validade dos resultados que se encontram dentro desse limite.

Dentro de um contexto de laboratórios de análise, independente do tipo de material analisado se constituir de sementes, folhas, solo ou óleos lubrificantes de máquinas agrícolas, essencialmente tem-se um mesmo processo envolvido, a busca por mensuração correta ou verdadeira (CAMPOS et al., 1999). Para garantir que um novo método analítico gere

informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve sofrer uma avaliação denominada de validação (RIBANI et al., 2004). A validação deve ser considerada quando se desenvolve ou efetua adaptações em metodologias já validadas, inclusão de novas técnicas ou uso de diferentes equipamentos (BRITO et al., 2003).

Diante disso, este trabalho teve por objetivo avaliar a repetibilidade e a reprodutibilidade de laboratórios no processo de validação de metodologias para teste de germinação de sementes de espécies lenhosas nativas, por meio das estatísticas k e h de Mandel.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A situação atual das espécies florestais nativas

O Comitê Técnico de Sementes Florestais criado em 1984 pela Associação Brasileira de Tecnologistas de Sementes (ABRATES) tem como prioridade a organização das metodologias para teste de germinação de sementes florestais (CAMARGO, 1985). Esse sem dúvida é o primeiro passo para a organização da produção e comercialização de sementes. Segundo Braga-Júnior et al. (2010) atualmente existe grande preocupação por parte dos pesquisadores e analistas de sementes, sobretudo os que trabalham com espécies florestais, em conduzir estudos que forneçam informações sobre a qualidade das sementes, especialmente no que diz respeito à padronização, agilização, aperfeiçoamento e estabelecimento dos métodos de análise.

Nas décadas de 70 e 80 houve grande aumento de pesquisas na área de sementes florestais, devido principalmente ao interesse gerado pela conservação e recuperação de áreas degradadas. Um levantamento realizado pelo Comitê Técnico de Sementes Florestais da ABRATES revela que 44% dos trabalhos publicados e 25% das pesquisas em andamento sobre sementes florestais eram sobre análise de germinação (PIÑA-RODRIGUES; COTTINI, 1991). Em decorrência, algumas espécies como *Cordia trichotoma*, *Cedrela fissilis* entre outras, possuem volume e qualidade de pesquisas que justificam a aferição de metodologias visando sua inclusão nas Regras oficiais de Análise de Sementes. Do total das pesquisas 40,4% referem-se a germinação, 17,5% à dormência e as áreas de pureza, tetrazólio e umidade representam menos de 4% (OLIVEIRA et al., 1996).

Um breve histórico realizado por Rogers em 1967 sobre a inclusão de espécies florestais em regras oficiais de análise de sementes mostrou que desde a década de 30, havia a preocupação com as espécies florestais. Espécies arbóreas utilizadas na silvicultura da Europa e da América do Norte não foram mencionadas nas regras internacionais emitidas pela ISTA em 1938 (ROGERS, 1967). Somente em 1953, algumas espécies arbóreas comercialmente importantes foram incluídas e em 1959 listadas numa seção separada. Nas regras da AOSA, que se tornaram oficiais em 1965, foram publicadas as metodologias de testes germinação e pureza de cerca de 100 espécies arbóreas ou arbustivas de maior importância comercial (ROGERS, 1967).

Recentemente, as Regras de Análise de Sementes publicadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2009) foram atualizadas, mas apesar de

incorporar a experiência e os avanços nacionais em análise de sementes, as espécies florestais brasileiras ainda são pouco representativas. Segundo Oliveira (1996) as espécies florestais nativas representavam menos de 0,1% das espécies de sementes encontradas nas RAS em 1996, esta proporção se mantém até hoje.

2.2 Repetibilidade e reprodutibilidade em processos de validação de metodologias

O desenvolvimento de um método analítico, a adaptação ou implementação de método conhecido, envolve processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina do laboratório (BRITO et al., 2003), ou seja, que o método seja validado. Um processo de validação bem definido e documentado oferece às agências reguladoras evidências objetivas de que os métodos e os sistemas são adequados para o uso desejado (RIBANI et al., 2004). A validação é definida pela ISO 9000 (ISO 9000, 2000) como a comprovação, por meio do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para aplicação ou uso específicos pretendidos foram atendidos. Segundo a ISTA (ISTA, 2007) esta definição pode ser aplicada para a validação de métodos em sementes como sendo uma investigação crítica de um teste de qualidade de sementes para assegurar que a descrição do método é clara e completa, e que o procedimento fornece exatidão. Implícito neste conceito está à necessidade de averiguar a repetibilidade e reprodutibilidade do método.

Repetibilidade é definida pela ISTA (ISTA, 2007) como a proximidade da concordância entre os resultados de medições sucessivas do mesmo mensurando realizadas sob as mesmas condições de medição. Reprodutibilidade é a medida da precisão em condições em que os resultados são obtidos com a mesma metodologia, mas com operadores, laboratórios e equipamentos diferentes. A principal função da reprodutibilidade é confirmar se determinada metodologia pode ou não ser transferida de um laboratório para outro, gerando resultados confiáveis dentro dos critérios estabelecidos (GOUVEIA et al., 2009). A reprodutibilidade dos resultados é o principal requisito desejado para um teste destinado à avaliação da qualidade de sementes, permitindo a comparação consistente dos resultados (AOSA, 1983; HAMPTON; TEKRONY, 1995). Assim, os parâmetros exatidão e precisão (repetibilidade e reprodutibilidade) constituem a chave para o processo de validação (BRITO et al., 2003).

Dado a importância da repetibilidade e da reprodutibilidade dos testes laboratoriais, inúmeros esforços têm sido concentrados no desenvolvimento, adaptação e padronização dos

testes para avaliação do vigor de sementes das principais espécies cultivadas (ARTHUR; TONKIN, 1991). A avaliação do vigor de sementes tem evoluído à medida que os testes vêm sendo aperfeiçoados e ganha precisão e reprodutibilidade de seus resultados, o que é de fundamental importância nas decisões que devem ser tomadas nas fases de produção e comercialização dos lotes, evitando o beneficiamento, transporte, comercialização e semeadura de lotes de sementes de qualidade inadequada (KRZYZANOWSKI; FRANÇANETO, 1991).

Procedimentos de validação de metodologias foram inicialmente descritos pela ISTA (International Seed Testing Association) apenas para metodologias de sanidade como o método para detecção do nematóide *Aphelenchoides besseyi* Christie em sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) (REMEEUS, 2008), conforme o Manual de validação de métodos para a detecção de patógenos em sementes (SHEPPARD; COCKERELL, 2000). Em 2002, o Comitê Executivo da ISTA decidiu que a validação deveria ser realizada para todos os testes de qualidade de sementes, não apenas para testes de sanidade e desde então vários métodos foram validados, como testes de amargues de sementes de tremoço (*Lupinus* spp.) (KILLERMANN, 2008), de tetrázólio para *Brassica* spp. (ARANGUREN et al., 2007) e de temperaturas ótimas para a germinação de sementes de cardo (*Cynara cardunculus*) (RANGELINK; REMEEUS, 2008).

Estudos também têm sido realizados a fim de averiguar a repetibilidade e reprodutibilidade das metodologias dos testes de germinação e pureza de sementes. Em testes de germinação com sementes de girassol, (*Helianthus annuus* L.) foi observado que os valores de repetibilidade e reprodutibilidade aumentam com a contaminação de fitopatógenos (DUCOURNAU et al., 2008). Rennie e Tomlin (1984) concluíram que a repetibilidade dos testes com amostras de sementes de trigo (*Triticum* spp.) infectadas com *Septoria nodorum* foi melhor que a reprodutibilidade entre laboratórios. Oliveira e Cicero (1996) também concluíram que a repetibilidade dos resultados dos testes de germinação de sementes de capim-colonião (*Panicum maximum*) foi melhor que a reprodutibilidade dos mesmos; e que a repetibilidade dos resultados das análises de pureza não influenciaram na repetibilidade dos resultados dos testes de germinação.

Portanto, a validação de metodologias é um aspecto vital da garantia da qualidade analítica (BARROS, 2002). A estratégia de validação é específica e influenciada pelo procedimento analítico utilizado, pela natureza e concentração do composto de interesse e pela matriz (RIBANI et al., 2004). Para que os laboratórios tenham repetibilidade e reprodutibilidade é necessário definir antes da realização dos testes a temperatura, a umidade

do substrato, a necessidade ou não de luz e os materiais a serem utilizados; os equipamentos precisam estar calibrados e os procedimentos a serem adotados bem descritos. (NAKAGAWA, 1999). A validação de metodologias deve ser planejada antes de seu desenvolvimento e execução (RIBANI et al., 2004). É preciso, ainda, ter analistas bem treinados para eliminar a subjetividade e tornar compatíveis e comparáveis os resultados das avaliações (NAKAGAWA, 1999). Correlacionando-se o desenvolvimento, otimização e validação de metodologias de uma maneira lógica e organizada, os laboratórios podem gerar resultados bastante eficientes e produtivos (RIBANI et al., 2004).

2.3 Repetibilidade e reprodutibilidade em metodologias validadas

A competitividade tem exigido em todos os setores aumento da qualidade nos produtos e serviços oferecidos. Este fato também tem afetado o setor de prestação de serviços, mais especificamente os laboratórios que estão sendo pressionados pelos clientes e concorrentes a oferecerem seus serviços com resultados válidos, com preços e prazos minimizados (ROCHA, 2004). Os laboratórios de análise, ensaio e calibração desempenham importante papel aumentando a eficiência dos processos permitindo melhor avaliação e desenvolvimento da qualidade e da segurança de produtos e serviços (CAMPOS et al., 1999). A necessidade de se mostrar a qualidade de medições químicas, através de sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade, está sendo reconhecida e exigida (RIBANI et al., 2004).

É internacionalmente reconhecido que a validação é necessária em laboratórios analíticos. A utilização de métodos validados é importante para um laboratório de análises mostrar a sua qualificação e competência (TAVERNIERS et al., 2004) e permite comparar os resultados de laboratórios em programas interlaboratoriais com a garantia de que a metodologia pode ser repetida e reproduzida sem grandes variações. Por outro lado, não é certo avaliar o desempenho de laboratórios, a menos que sejam utilizados métodos validados e se tenham disponíveis amostras homogêneas a serem distribuídas uniformemente (CHUI et al., 2002).

Várias são as técnicas estatísticas empregadas para a avaliação de resultados em programas interlaboratoriais. A técnica do erro normalizado é considerado um método conveniente para o julgamento da qualidade de um resultado de medição (COSTA; ROCHA, 2005). A técnica do z-score é adotada quando se deseja avaliar o desempenho técnico de

laboratórios, principalmente em testes de proficiência (CHUI et al., 2004; COSTA; ROCHA, 2005). A técnica do gráfico da elipse de confiança é mais utilizada para verificar a compatibilidade entre os laboratórios, e segue o método de Youden (CHUI et al., 2004; COSTA; ROCHA, 2005). Os testes de Cochran e Grubbs são testes estatísticos geralmente utilizados para a análise de resultados dispersos, antes de se proceder à interpretação de resultados populacionais de distribuição normal (ISO 5725-2; LUPING; SCHOUENBORG, 2000; CHUI et al., 2004). A técnica da análise das variâncias (ANAVA) inclui cálculos de repetibilidade e reprodutibilidade e é usada para analisar observações que dependem de um ou mais efeitos, que são causados por fatores, cujos níveis também são denominados grupos; no caso específico, laboratórios diferentes (ISO, 5725-2; LUPING; SCHOUENBORG, 2000; CHUI et al., 2004).

Índices de repetitividade e reprodutibilidade são calculados na ANAVA a fim de determinar parâmetros de precisão para métodos de ensaios. Campos et al. (1999) utilizaram o método descrito por Waeny (1980b) para avaliar a repetibilidade e a reprodutibilidade de laboratórios e sua aplicação no controle de qualidade de análises do solo. Chui et al. (2002) indicaram o uso desses índices, obtidos em programas interlaboratoriais, para o controle de precisão de método analítico na determinação de água por Karl Fischer. Rus et al. (1995) em um estudo entre laboratórios, avaliaram a porcentagem de germinação e índice de germinação em testes de vigor de sementes por meio de repetibilidade e reprodutibilidade. Sobrinho et al. (2008) realizaram a validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel pela técnica da ANAVA e os valores de repetibilidade e reprodutibilidade. Fonseca et al. (2004) utilizam a mesma técnica para validação de metodologia analítica para doseamento de soluções de lapachol por CLAE.

Uma ferramenta acessível para averiguar a consistência dos resultados de análises interlaboratoriais são as estatísticas k e h de Mandel (ISTA, 2007; LUPING; SCHOUENBORG, 2000). A estatística k de Mandel é uma estatística de consistência interna do laboratório, que indica o desvio dos resultados de um laboratório, quando comparado com o desvio padrão de repetibilidade. A estatística h de Mandel é uma estatística de consistência entre os laboratórios, que indica o desvio da média de um laboratório, quando comparada com a média geral obtida pelos laboratórios (LUPING; SCHOUENBORG, 2000). Essas estatísticas aplicadas aos testes laboratoriais estabelecem valores críticos e garantem a repetibilidade (estatística k de Mandel) e a reprodutibilidade (estatística h de Mandel) dos resultados que se encontram dentro desse limite.

Repetibilidade e reprodutibilidade têm aplicação direta no dia a dia do laboratório: para as questões internas do controle de produção em indústrias, para o controle da qualidade de resultados de ensaios em laboratórios e em situações de impasse, envolvendo a relação fornecedor-comprador, quando se tem de decidir sobre aceitação ou rejeição de bens e serviços (CHUI et al., 2002). Por meio do tratamento estatístico dos resultados obtidos nos diferentes laboratórios, relativos ao mesmo equipamento ou a mesma amostra e segundo procedimento de medição padrão, é possível conhecer o grau de controle de cada laboratório sobre o procedimento global das medições, desde a calibração do equipamento/instrumento até a habilidade do operador (COSTA; ROCHA, 2005).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Dez espécies participaram do estudo: *Astronium fraxinifolium* Schott ex Spreng., *Ceiba speciosa* (A. St.-Hill.) Ravenna, *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart., *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong., *Guazuma ulmifolia* Lam., *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth., *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. , *Pseudobombax tomentosum* (C. Martius & Zuccarini) Robyns e *Pterogyne nitens* Tul.

Protocolos contendo detalhes de metodologias de germinação destas espécies (Tabela 1) foram enviados para os laboratórios (entre 11 e 12 laboratórios) juntamente com quatro lotes de sementes de qualidade de germinação fisiológica distinta, tendo obrigatoriamente alta, intermediária e baixa qualidade de germinação. Dois laboratórios conduziram os testes com dezesseis repetições de 25 sementes (400 sementes) e o restante com oito repetições de 25 sementes (200 sementes).

As análises estatísticas foram conduzidas sempre com quatro repetições, independente do número de sementes (200 ou 400 sementes) e foram calculadas com base nos resultados de plântulas normais obtidas por cada laboratório. Plântulas normais são aquelas que mostram potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais, quando desenvolvidas sob condições favoráveis (BRASIL 2009). Estas podem ser classificadas em plântulas normais ou anormais (Figura 1). Plântulas normais podem ser plântulas intactas, plântulas com pequenos defeitos ou plântulas com infecção secundária. Plântulas anormais podem ser danificadas, deformadas ou deterioradas (BRASIL, 2009).

Pontos discrepantes, conhecidos como “outliers”, foram removidos antes da estimativa de repetibilidade e reprodutibilidade, por meio da estatística de Box-plot. Experiências têm mostrado que outliers não podem ser sempre evitados e, portanto, devem ser levados em consideração de forma similar ao tratamento dado às repetições perdidas (ISO 5725-2). As análises de repetibilidade e reprodutibilidade foram realizadas com o auxílio do programa charbon ISO5725_2000.

Tabela 1. Metodologias empregadas no processo de validação das espécies florestais nativas, incluindo substrato, temperatura, tempos para primeira e segunda contagens, tratamento para superação da dormência e referências consultadas.

Espécie (Família)	Teste de germinação				Referências consultadas
	Substrato ¹	T°C	Contagem (dias)	Tratamento	
<i>Astronium fraxinifolium</i> Schott ex Spreng. (ANACARDIACEAE)	RP	25	7-11	Sem tratamento	Melo et al. (1979); Martins; Faiad (1995); Aguiar et al. (2001); Salomão et al. (2003); Lima et al. (2008)
<i>Ceiba speciosa</i> (A. St.-Hill.) Ravenna (BOMBACACEAE)	RP	25	7-10	Sem tratamento	Joly; Crawford (1983); Kageyama et al. (1992); Durigan et al. (1997); Fanti; Perez. (1999); Carvalho et al. (2006)
<i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart. (BIGNONIACEAE)	RP	25	14-35	Sem tratamento	Wetzel (1997); Santos et al. (1998); Ortolani et al. (2008)
<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong. (FABACEAE -MIMOSOIDEAE)	RP	25	7-14	Escarificação mecânica ²	Eira et al. (1993); Meneghello; Mattei. (2004); Scalon et al. (2005); Brasil (2009); Aquino et al. (2009);
<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam. (STERCULIACEAE)	GB	25	10-14	Escarificação térmica ³	Valeri et al. (2000); Lima et al. (2003); Motta et al. (2006); Nunes et al. (2006); Carvalho (2007); Sobrinho; Siqueira (2008); Gonçalves et al. (2009)
<i>Lafoensia pacari</i> A. St.-Hil. (LYTHRACEAE)	RP	25	14-21	Sem tratamento	Seneme et al. (2010); Mendonça et al. (2006); Piveta et al. (2009)
<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> Benth. (FABACEAE-MIMOSOIDEAE)	RP	25	5-10	Desponte ⁴	Lopes et al. (2004); Marques et al. (2004); Zamith; Scarano (2004)
<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub. (FABACEAE – CAESALPINOIDEAE)	RP	25	7-14	Desponte ⁴	Guerra et al. (1982); Bianchetti; Ramos (1982); Perez et al. (1999); Oliveira et al. (2003)
<i>Pseudobombax tomentosum</i> (C. Martius & Zuccarini) Robyns (BOMBACACEAE)	RP	25	10-17	Sem tratamento	Oliveira (1998); Sousa-Silva (2001); Oliveira; Paula (2001); Lorenzi (2002);
<i>Pterogyne nitens</i> Tul. (FABACEAE - CAESALPINOIDEAE)	RP	25	7-14	Desponte ⁴	Silva et al. (1995); Nassif ; Perez (1997); Nassif; Perrez (2000); Nascimento et al. (2006); Wielewick et al. (2006); Santos et al. (2008)

¹RP: rolo de papel; GB: gerbox com papel de filtro; ²Escarificação mecânica manual, com lixa para ferro nº 50, na extremidade oposta à micrópila sem atingir os cotilédones; ³Imersão em água a 70°C seguido de embebição por 1 hora. Após este período remover completamente a mucilagem das sementes em água corrente;

⁴Desponte manual, com cortador de unhas (enviado junto com as sementes), na extremidade oposta à micrópila. Proceder à limpeza do cortador de unhas com álcool 70% antes do desponte de cada lote de semente e durante o processo para evitar a contaminação.

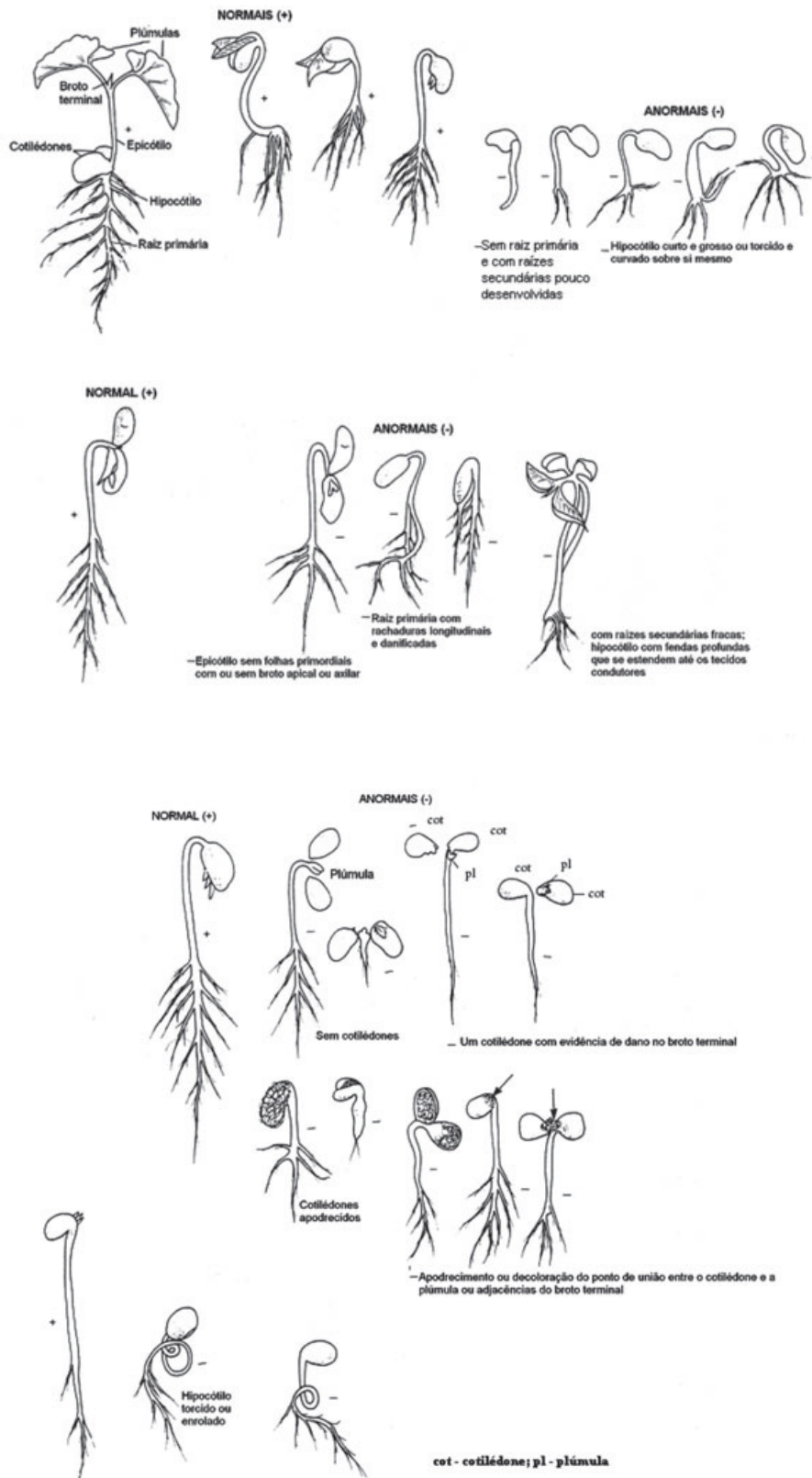


Figura 1. Categoria de normalidade e anormalidade em Dicotiledôneas (BRASIL, 2009).

Para cada lote de todas as espécies (Tabela 1) foi calculada a variância de repetibilidade, segundo a expressão:

$$S_{rj}^2 = \frac{\sum_{l=1}^{P_j} (n_{lj}-1) S_{lj}^2}{\sum_{l=1}^{P_j} (n_{lj}-1)} \quad (1)$$

sendo

$$S_{lj}^2 = \frac{\sum_{l=1}^{n_{lj}} (\bar{y}_{lj} - \bar{y}_j)^2}{n-1} \quad (2)$$

onde j representa o lote, l o laboratório; P_j é a quantidade de laboratórios que não perderam repetições do lote j , n_{lj} é o número de repetições do laboratório l para o lote j ; \bar{y}_{lj} e \bar{y}_j são, respectivamente, a média dos resultados obtidos pelo laboratório l do lote j e a média dos resultados obtidos do lote j . Essa variância medirá a concordância dos valores obtidos indicando se os testes realizados para um determinado lote podem ser repetidos pelos laboratórios sem variações significativas.

A variância de reprodutibilidade de um determinado lote j (S_{Rj}^2) é a soma entre a variância de repetitividade de um determinado lote (S_{rj}^2) e a variância dos resultados de um lote entre os laboratórios (S_{Lj}^2), indicando assim, o quanto os testes realizados podem ser reproduzidos por outros laboratórios sem variações significativas. Essa medida foi calculada para cada lote e é definida por:

$$S_{Rj}^2 = S_{rj}^2 + S_{Lj}^2 \quad (3)$$

sendo: $S_{Lj}^2 = \frac{S_{dj}^2 - S_{rj}^2}{\bar{n}_j}$; $S_{dj}^2 = \frac{\sum_{l=1}^{P_j} n_{lj} (\bar{y}_{lj} - \bar{y}_j)^2}{P_j - 1}$ e $\bar{n}_j = \frac{1}{(P_j - 1)} \left(\sum_{l=1}^{P_j} n_{lj} - \frac{\sum_{l=1}^{P_j} n_{lj}^2}{\sum_{l=1}^{P_j} n_{lj}} \right)$.

Os valores de repetibilidade e reprodutibilidade foram obtidos para cada lote testado e podem estar expressos como variâncias ou como desvio padrão, estando indicado nas tabelas 3 e 4 e com a unidade de medida em questão.

Contudo, a verificação da consistência dessas medidas foi feita com base nas estatísticas k e h de Mandel a 1% e 5% de significância. A estatística k aplicada aos testes laboratoriais identifica laboratórios que não foram repetitivos. A estatística h indicam laboratórios que superestimaram ou subestimaram valores em relação aos demais laboratórios. O valor k para o laboratório l e lote j (k_{lj}) é dado pela razão entre o desvio padrão dos valores obtidos pelo laboratório l para o lote j (S_{lj}) e o desvio padrão de repetitividade do lote j (S_{rj}) e foi calculado pela equação:

$$k_{lj} = \frac{S_{lj}}{S_{rj}}. \quad (4)$$

Para estabelecer o limite crítico de repetibilidade foi calculado o k_c pela equação:

$$k_c = \sqrt{\frac{n_1 F_{(\alpha, n_1, n_2)}}{F_{(\alpha, n_1, n_2)} + (n_1 - 1)}}, \quad (5)$$

onde $F_{(\alpha, n_1, n_2)}$ é o quantil $100(1 - \alpha)\%$ da distribuição F com graus de liberdade, sendo $n_1 = n_r - 1$ e $n_2 = (p - 1)(n_r - 1)$, onde n_r é o numero de repetições e p o número de laboratórios. A estatística h foi calculada pela equação:

$$h_{lj} = \frac{\bar{y}_{lj} - \bar{y}_j}{\sqrt{\frac{\sum_{l=1}^{P_j} (\bar{y}_{lj} - \bar{y}_j)^2}{(P_j - 1)}}} \quad (6)$$

e, assim como na estatística k , será estabelecido o limite crítico, no caso h_c , pela equação:

$$h_c = \frac{(P_j - 1) t_{(\alpha, n)}}{\sqrt{P_j (t_{(\alpha, n)}^2 + P_j - 2)}}, \quad (7)$$

onde $t_{(\alpha, n)}$ é o quantil $100(1 - \alpha)\%$ da distribuição t de “Student” com graus de liberdade $n = P_j - 2$.

A análise dos dados da estatística k e h de Mandel forneceu valores por laboratório. Isto permitiu a verificação da uniformidade entre os laboratórios e detectar eventuais discrepâncias entre os laboratórios (ISTA, 2007). Os valores de k e h e seus respectivos limites críticos estão apresentados em tabelas identificando assim laboratórios que não possuíram repetibilidade (estatística k) e laboratórios que subestimaram ou superestimaram (estatística h) dados de plântulas normais.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variâncias de repetibilidade (S_{rj}^2) (Tabela 2) apresentaram-se menores em lotes de melhor qualidade, com exceção em *Pterogyne nitens* que apresentou menor variância de repetibilidade no lotes de baixa qualidade. As variâncias de reprodutibilidade (S_{Rj}^2) (Tabela 2) apresentaram-se menores em lotes de melhor qualidade para *Cybistax antisiphilitica* (possui dois lotes de alta qualidade sem diferença estatística, mas este resultado aplica-se somente a um deles), *Enterolobium contortisiliquum*, *Guazuma ulmifolia*, *Lafoensia pacari*, *Mimosa caesalpiniaefolia*, e *Pseudobombax tomentosum* e apresentaram-se menores em lotes de baixa qualidade para *Astronium fraxinifolium*, *Ceiba speciosa* e *Pterogyne nitens*. Apenas *Peltophorum dubium* apresentou variância de reprodutibilidade menor em um lote intermediário.

Brasil (2009) descreve o teste de germinação para várias espécies e recomenda-o para estabelecer parâmetros de comparação dos resultados entre lotes em razão de sua alta repetibilidade. Variâncias elevadas de repetibilidade (S_{rj}^2) e de reprodutibilidade (S_{Rj}^2) significam respectivamente baixa repetibilidade e reprodutibilidade. Assim, ser apontado com elevadas variâncias para plântulas normais indica que os laboratórios encontraram dificuldade em analisar esse fator e isto ocorreu com maior frequência em lotes com qualidade intermediária.

Os lotes de sementes que possuem germinação compatível com os padrões para comercialização e apresentam qualidade semelhante no teste de germinação, requerem uma análise mais sensível para avaliar o potencial de desempenho (CASEIRO; MARCOS-FILHO, 2000). Lotes de melhor qualidade em geral possuem maior quantidade de plântulas normais intactas e lotes de baixa qualidade possuem grande número de sementes não germinadas, as quais podem ser duras, dormentes, mortas ou pertencentes a outras categorias (BRASIL, 2009). Ambos os lotes não geram dúvida quanto à classificação de plântulas normais/anormais e à porcentagem de germinação. Entretanto, lotes de qualidade intermediária possuem maior quantidade de plântulas normais com pequenos defeitos ou com infecção secundária e plântulas anormais danificadas, deformadas ou deterioradas (BRASIL, 2009). Esses aspectos podem causar dúvidas em laboratoristas em treinamento e levar a classificação errônea das plântulas. Por isso é importante ter analistas bem treinados para eliminar a subjetividade e tornar compatíveis e comparáveis os resultados das avaliações (NAKAGAWA, 1999).

Tabela 2. Resultado da análise das variâncias de repetibilidade (S_{rj}^2) e reprodutibilidade (S_{Rj}^2), número de laboratórios participantes (Lab total) e porcentagem média de plântulas normais (Média) dos 4 lotes de 10 espécies florestais nativas.

Plântulas normais	Espécie																			
	<i>Astronium fraxinifolium</i>				<i>Ceiba speciosa</i>				<i>Cybistax antisiphilitica</i>				<i>Enterolobium contortisiliquum</i>				<i>Guazuma ulmifolia</i>			
	Lote																			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Média ^a	72,29	56,31	41,50	33,77	33,11	67,21	40,09	40,74	13,61	88,10	53,88	85,77	95,27	45,77	16,43	82,15	51,44	82,16	51,20	71,70
S_{rj}^2 ^b	33,18	54,77	55,22	51,44	76,81	74,03	78,56	135,36	37,36	41,61	54,45	32,18	9,24	37,40	33,30	28,41	43,88	12,83	42,39	56,68
S_{rj} ^c	5,76	7,40	7,43	7,17	8,76	8,60	8,86	11,63	6,11	6,45	7,38	5,67	3,04	6,12	5,77	5,33	6,62	3,58	6,51	7,53
S_{Rj}^2 ^d	141,28	155,23	89,92	74,82	86,70	243,23	229,35	274,28	53,51	49,34	86,99	44,32	9,68	55,19	35,92	47,86	67,32	12,19	60,94	62,73
S_{Rj} ^e	11,89	12,46	9,48	8,65	9,31	15,60	15,14	16,56	7,31	7,02	9,33	6,66	3,11	7,43	5,99	6,92	8,20	3,49	7,81	7,92
Lab total	12				11				11				11				12			

Plântulas normais	Espécie																			
	<i>Lafoensia pacari</i>				<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>				<i>Peltophorum dubium</i>				<i>Pseudobombax tomentosum</i>				<i>Pterogyne nitens</i>			
	Lote																			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Média ^a	88,17	43,23	73,92	44,79	32,45	91,39	54,83	63,06	53,76	29,69	39,63	68,96	88,95	17,49	48,33	48,04	71,20	66,43	49,70	34,24
S_{rj}^2 ^b	19,35	26,23	44,82	61,58	50,84	21,69	59,38	45,53	36,89	29,43	57,47	21,58	20,77	33,81	62,57	45,07	46,41	41,47	40,21	34,56
S_{rj} ^c	4,40	5,12	6,69	7,85	7,13	4,66	7,71	6,75	6,07	5,42	7,58	4,65	4,56	5,81	7,91	6,71	6,81	6,44	6,34	5,88
S_{Rj}^2 ^d	43,74	64,31	130,03	106,48	94,78	18,30	123,19	155,98	48,98	51,07	108,29	146,39	36,94	64,42	154,11	328,97	82,20	105,73	63,22	61,90
S_{Rj} ^e	6,61	8,02	11,40	10,32	9,74	4,28	11,10	12,49	7,00	7,15	10,41	12,10	6,08	8,03	12,41	18,14	9,07	10,28	7,95	7,87
Lab total	12				12				12				12				11			

^a Porcentagem média de plântulas normais no lote j, ^b variância de repetibilidade (S_{rj}^2), ^c variância de reprodutibilidade (S_{Rj}^2), ^d desvio padrão de repetibilidade (S_{rj}) e ^e desvio padrão de reprodutibilidade (S_{Rj}) estão na unidade plântulas normais.

As variâncias de reprodutibilidade foram maiores que as variâncias de repetibilidade para todas as espécies e lotes com apenas duas exceções no lote 2 de *Guazuma ulmifolia* e no lote 2 de *Mimosa caesalpiniaefolia*. Campos et al. (1999) concluíram que a reprodutibilidade de laboratórios de análise de solos foi sempre superior a repetibilidade, indicando que a variação entre os laboratórios foi maior que dentro dos mesmos, isso é esperado pois há variações nos equipamentos e nos laboratoristas. Conceitualmente a variância de reprodutibilidade (S_{Rj}^2) é a soma de duas variâncias, a variância de repetibilidade (S_{rj}^2) e a variância entre laboratórios (S_{Lj}^2) (Equação 3) (WANG; LI, 2003). Entretanto variância de repetibilidade (S_{rj}^2) elevada não implica necessariamente em incremento da variância de reprodutibilidade (S_{Rj}^2) (Tabela 2).

Na retirada de outliers pela análise de Box-plot houve elevada quantidade de laboratórios contendo todas as repetições de um lote como sendo “outliers” (Tabelas 3 e 4). O laboratório 12, por exemplo, teve todas as repetições de todos os lotes de *Pterogyne nitens* consideradas “outliers” e o laboratório 7 apresentou todas as repetições de dois lotes de *Mimosa caesalpiniaefolia* como sendo “outliers”. Ocorreram também casos em que um laboratório foi identificado como contendo “outliers” em todas as repetições de determinados lotes e após as análises das estatísticas k e h de Mandel, os demais lotes foram identificados na estatística h como discrepantes. Isso ocorreu para o laboratório 3 na análise de *Pterogyne nitens* e para o laboratório 12 em *Pseudobombax tomentosum*. Isso comprova que esses laboratórios, para estas espécies, tiveram erros sistemáticos. Esses erros podem ser atribuídos a problemas no emprego da norma, envolvendo procedimentos operacionais que devem estar divergindo de um laboratório a outro. Muitos fatores podem estar contribuindo para isso, devendo ser identificados os problemas (CHUI et al., 2002). A ISTA recomenda eliminar outliers antes da realização das análises estatísticas, porém esses laboratórios apresentam erros sistemáticos e são facilmente identificados por meio de gráficos ou por breve análise dos dados, podendo ser retirados durante o processo de validação antes dos testes de outliers para evitar cálculos desnecessários. Por isso é importante salientar que um laboratório apontado como “outliers” tem dados mais discrepantes que laboratórios apontados na estatística h de Mandel a 1% e 5% de significância ou na estatística k de Mandel a 1% e 5% de significância.

Tabela 3. Resultados do índice de reprodutibilidade dos laboratórios em dados de plântulas normais de 10 espécies florestais nativas através da estatística k de Mandel a 1 e 5% de significância.

		Estatística k																																									
Significância		Espécie																																									
		<i>Astronium fraxinifolium</i>				<i>Cybistax antisyphilitica</i>				<i>Enterolobium contortisiliquum</i>				<i>Guazuma ulmifolia</i>				<i>Lafoensia pacari</i>				<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>				<i>Peltophorum dubium</i>				<i>Pseudobombax tomentosum</i>				<i>Pterogyne nitens</i>									
k 1% ^a		Lotes																																									
k 5% ^a		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4						
Outliers		Porcentagem média de plântulas normais																																									
Laboratório		72	56	42	34	33	67	40	41	14	88	54	86	95	46	16	82	51	82	51	72	88	43	74	45	32	91	55	63	54	30	40	69	89	17	48	48	71	66	50	34		
Lab 1		0,85	0,52	1,17	1,30	0,93	0,77	0,66	1,26	1,16	0,72	1,04	0,50	1,84	0,61	1,28		0,63	0,71	1,61	1,13	1,25	1,31	0,75	0,44	1,14	2,03	1,48	0,82	1,47	0,84	1,47	0,41	1,61	1,05	0,67	1,18	1,23	1,83	1,12	2,00		
Lab 2		1,04	0,74	0,47	0,77	0,84	1,08	0,92	1,13	0,73	1,00	1,00	1,94	1,02	1,18	0,85		0,63	1,22	0,22	0,58	0,77	0,59	1,17	0,68	0,51	0,95	0,56	0,75	0,81	1,55	0,11	1,14	1,52	1,00	0,86	0,38	0,97	0,16	0,84	1,31		
Lab 3		0,28	1,13	1,19	1,09	1,19	0,32	0,77	0,36	0,78	1,52	1,14	0,76					0,85	0,57	0,92	0,67					0,80	0,91	0,93	1,96					0,85	0,69	0,74	1,07		0,45		0,60		
Lab 4		1,18	1,17	1,15	0,95	0,51	1,04	0,84	0,60	0,84	1,07	1,09	1,02	1,48	0,42	0,66	0,81	0,47	0,63	0,60	0,62					1,05	1,45	1,17	1,33	1,12	1,01	0,87	1,51	1,11	0,47	1,11	0,74	0,75	1,06	0,84	0,77		
Lab 5		0,75	0,64	0,92	0,51	0,51	0,42	0,95	0,50	0,71	1,31	1,23	1,11	0,39	0,95	1,63	2,12	1,06	1,13	1,07	0,73	0,57	0,76	0,99	1,11	1,13		0,58	0,57		0,55	0,45	0,41	0,45		1,51	0,37	1,03	0,40	0,95	1,15		
Lab 6		0,98	0,68	0,58	1,18					0,98	1,17	0,89	1,04	0,69	0,61	0,50	0,83	1,17	0,28	0,69	0,80	0,86	1,49	0,86	1,84	0,36	0,96	0,91	0,56	0,40	1,40	0,82	1,81	0,60	2,12	1,58	1,04	0,40	1,07	1,12	0,87		
Lab 7		1,59	0,68	0,97	0,82	0,61	1,73	1,27	0,93	1,35	0,65	1,48	1,09	0,67	1,25	0,28	0,93	0,94	0,28	0,31	1,01	0,34	0,63	0,14	0,57			0,47	1,04	0,93	0,49	1,17	0,61	1,45	0,47	1,36	1,36	1,17	1,18	0,69	0,75		
Lab 8									0,86	0,52	0,84	1,01	1,16	1,09	0,85	1,05																											
Lab 9		1,61	1,24	1,05	0,95	1,09	1,33	1,61	1,44	1,82	0,67	1,00	0,34	0,67	1,54	0,63	1,13	1,32		1,27	1,57	1,41	1,14	0,82	0,98	1,24	0,00	0,62	0,87	0,67	0,96	1,02	0,90	0,80	0,91	0,73	1,74	1,13	1,13	0,42	0,60		
Lab 10		0,72	1,50	0,93	0,70	1,42	0,97	1,08	1,69	0,34	1,26	0,28	0,44	0,57	0,64	0,46	1,22	1,32	0,99	1,22	0,82	1,55	1,27	1,93	0,48	0,33	0,76	0,83	0,60	0,52	1,20	0,88	1,33	0,61	0,38	0,42	0,65	1,13	0,26	2,12	0,77		
Lab 11		0,91	1,66	1,65	1,67	1,26	1,45	1,28	0,52	0,60	0,48	0,39	0,73					1,14	1,07	1,10	1,73	0,94	1,27	0,62	1,32	2,27	1,17	1,61	1,11	1,35	1,10	1,17	0,50	1,19	1,59	0,43	0,25	0,91	0,59	0,65	0,44		
Lab 12		0,57	0,42	0,86	0,90	1,24	0,24	0,50	1,07					1,00	0,38	1,18	0,35	1,23	0,71	0,82	0,70	1,50	0,76	1,68	1,20	0,23		0,54	0,92	1,16	0,84	0,69	0,89		0,63	0,67	0,52						
Lab 13					0,90		0,50	0,45					0,39	1,44	1,59	0,54						0,68	0,23	0,29	0,62	0,68	1,09	1,38	0,51	0,83		1,13	0,43	0,23	0,75	1,03	1,38	1,42	1,39	0,80	0,72		
Lab 14		0,62	0,72	0,32	0,57													0,78	2,28	1,21	0,86	0,57	1,02	0,49	0,94																		
Lab 15																						0,57	0,75	0,66	0,87					1,53	1,03	1,38	0,81										
kc 1%		1,85				1,85				1,85				1,85				1,85				1,85				1,85				1,85				1,85									
kc 5%		1,58				1,58				1,58				1,58				1,58				1,58				1,58				1,58				1,58									

^a Os valores de k indicados na tabela foram superiores ao k_c a 1% ou a 5% de significância.

Tabela 4. Resultados do índice de repetibilidade dos laboratórios em dados de plântulas normais de 10 espécies florestais nativas através da estatística h de Mandel a 1 e 5% de significância.

		Estatística h																																									
Significância		Espécie																																									
		<i>Astronium fraxinifolium</i>				<i>Ceiba speciosa</i>				<i>Cyristax antisiphilitica</i>				<i>Enterolobium contortisiliquum</i>				<i>Guazuma ulmifolia</i>				<i>Lafoensia pacari</i>				<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>				<i>Peltophorum dubium</i>				<i>Pseudobombax tomentosum</i>				<i>Pterogyne nitens</i>					
h 1% ^a		Lotes																																									
h 5% ^a		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4						
Outliers		Percentagem média de plântulas normais																																									
Laboratório		72	56	42	34	33	67	40	41	14	88	54	86	95	46	16	82	51	82	51	72	88	43	74	45	32	91	55	63	54	30	40	69	89	17	48	48	71	66	50	34		
Lab 1		0,53	1,00	1,36	0,21	0,91	0,71	0,76	0,70	0,32	0,31	0,41	0,74	-1,01	-0,35	0,78	0,27	0,37	0,75	0,97	0,31	1,15	0,26	1,12	0,72	-0,44	0,58	0,52	0,40	0,83	0,11	0,75	1,06	0,87	0,84	1,07	1,26	0,32	1,49	0,43			
Lab 2		1,37	1,76	1,22	1,71	1,32	0,23	1,40	1,10	1,76	0,20	1,03	0,11	-1,11	-1,51	-1,34	1,29	0,98	1,64	0,09	0,82	0,24	0,34	0,16	0,05	-1,06	0,67	0,34	0,43	0,24	0,54	0,26	1,06	1,43	0,79	0,64	0,90	0,21	0,82	0,05			
Lab 3		1,88	1,15	1,87	1,62	0,02	1,03	1,73	1,65	1,31	0,59	0,62	1,16				0,25	0,10	1,34	0,89					-0,10	-1,18	-0,60	-0,68				0,63	0,31	0,35	0,49		2,19		2,16				
Lab 4		0,35	0,22	1,44	1,53	0,07	0,62	0,74	0,70	0,72	2,16	2,32	2,15	0,76	0,14	1,83	0,47	1,14	0,31	0,20	0,02				0,02	-0,94	0,30	0,21	0,05	0,99	1,38	1,00	0,85	0,71	0,80	1,08	0,04	0,03	1,15	0,14			
Lab 5		0,40	0,58	0,50	0,29	0,44	1,04	1,30	1,39	0,47	1,24	0,90	0,10	-0,13	0,33	0,47	0,47	1,20	2,07	0,85	2,17	1,36	0,49	0,16	0,28	-1,73		-0,38	-0,50		2,08	2,12	0,14	1,40		1,48	1,37	1,39	0,40	0,63	0,79		
Lab 6		0,53	0,58	0,36	0,37					0,81	0,20	0,28	0,10	-0,86	1,30	0,70	-0,28	0,84	0,91	0,37	1,11	1,60	0,27	1,16	0,68	0,59	1,30	0,30	-0,10	0,50	0,38	0,26	0,70	0,01	0,56	0,84	0,84	1,18	0,14	0,12	0,71		
Lab 7		0,26	1,11	1,01	0,63	0,90	0,02	1,12	0,37	0,42	1,33	0,48	0,63	-0,72	-0,64	0,47	-1,15	1,63	0,71	0,77	0,31	0,11	0,90	0,22	1,07			-1,22	-1,60	1,57	0,56	0,33	1,14	0,42	0,39	0,35	0,73	0,17	0,37	0,14	0,03		
Lab 8										0,62	0,72	0,76	0,63	-0,13	0,72	-1,34	0,00																										
Lab 9		1,04	1,23	0,36	0,79	0,48	0,20	0,12	0,40	0,18	0,61	0,76	1,26	0,47	-0,54	-0,73	0,09	0,27		1,29	0,97	1,33	0,44	0,35	0,30	0,59	1,30	0,92	0,29	1,96	0,47	0,60	0,88	1,61	0,79	1,27	0,23	0,47	0,67	0,48	0,74		
Lab 10		1,55	0,26	0,36	0,95	0,67	0,35	0,08	0,21	1,76	0,16	0,66	0,63	-0,27	1,68	-0,89	-1,00	0,42	0,17	0,24	0,23	0,31	1,15	1,11	0,81	0,40	-0,32	0,50	0,65	0,30	0,83	0,57	0,18	0,69	0,83	0,14	0,42	1,10	0,35	0,72	0,51		
Lab 11		0,63	0,44	0,29	0,13	1,04	0,67	0,68	0,89	0,03	0,77	0,55	0,84				0,50	1,46	1,16	0,45	0,80	0,58	0,47	0,10	1,06	0,55	1,03	1,36	0,19	0,99	0,67	0,79	0,70	0,16	0,47	0,05	1,33	1,98	1,16	1,75			
Lab 12		0,74	1,23	0,43	0,95	1,28	2,30	0,57	1,31					0,76	0,17	-0,28	-0,75	0,10	0,58	0,20	0,45	0,31	0,08	0,76	0,62	-2,07		-2,41	-1,79	1,47	1,19	0,36	0,31		2,04	1,87	2,16						
Lab 13					1,74		0,41	0,51						2,24	-1,31	0,32	2,15				1,36	2,24	2,20	2,47	0,47	0,80	0,30	1,31	0,71		1,10	2,27	0,97	0,79	0,74	0,21	0,17	0,50	1,51	0,35			
Lab 14		0,51	0,57	0,43	0,00												1,61	0,82	1,16	1,36	0,12	0,22	1,01	0,81																			
Lab 15																					1,17	1,27	1,18	0,35					0,54	0,44	1,29	0,92											
hc 1%		2,25				2,22				2,22				2,22				2,25				2,25				2,25				2,25				2,22									
hc 5%		1,83				1,82				1,82				1,82				1,83				1,83				1,83				1,83				1,82									

^a Os valores de h indicados na tabela foram superiores ao h_c a 1% ou a 5% de significância.

Para a ISTA a análise dos dados fornecendo valores por laboratório (ISTA, 2007), no caso das estatísticas k e h de Mandel, permitem a verificação da uniformidade nos resultados dos laboratórios ou na detecção de alguma discrepância entre os laboratórios. Em casos em que um laboratório apresenta diferenças em relação aos demais, o relatório dos parâmetros repetibilidade e reprodutibilidade pode ser separado em um conjunto de dados com todos os laboratórios e um outro onde o laboratório em questão não está incluído nas análises (ISTA, 2007).

A estatística k de Mandel (Equação 4) indica o desvio de um laboratório quando comparado com o desvio padrão de repetibilidade (ISTA, 2007). Laboratórios indicados como discrepantes nesta estatística (Tabela 3) apresentaram grandes variações nas repetições analisadas, ou seja, são pouco repetitivos. O laboratório 11 foi indicado com problemas nesta estatística a 5% de significância em três dos quatro lotes de *Astronium fraxinifolium*, e em dois lotes de *Mimosa caesalpiniaefolia*, no lote 1 a 1% de significância e no lote 3 a 5% de significância. O laboratório 1 apresentou discrepância para dois lotes de *Pterogyne nitens*, no lote 2 a 5% de significância e no lote 4 a 1% de significância. O laboratório 5 apresentou problemas em dois lotes de *Enterolobium contortisiliquum*, para o lote 3 a 5% de significância, para o lote 4 a 1% de significância. Para os demais laboratórios, dados discrepantes foram pontuais para espécie e lotes.

Variações apontadas nesta estatística ocorrem principalmente devido a variabilidade inerente as espécies florestais, mas também podem ocorrer devido à falta de padronização interna na execução do teste, como a escolha de sementes mais vigorosas nas primeiras repetições sobrando sementes menos vigorosas para as últimas, inexperiência nos critérios de avaliação de plântulas normais, contaminação durante as avaliações, entre outros.

Os laboratórios indicados na estatística h de Mandel (Tabela 4) apresentaram suas médias discrepantes em relação aos outros laboratórios, pois se trata de uma medida do desvio da média de um laboratório quando comparado com a média geral obtida de todos os laboratórios (LUPING; SCHOUENBORG, 2000). O laboratório 3 foi identificado como discrepante em dois lotes de *Astronium fraxinifolium* e dois lotes de *Pterogyne nitens*, sendo que para este, os outros dois lotes foram considerados “outliers”. O laboratório 4 apresentou problema em três dos quatro lotes de *Cybistax antisyphilitica*. O laboratório 5 em dois lotes de *Guazuma ulmifolia* e em dois lotes de *Peltophorum dubium*, sendo que para este outro lote foi considerado “outliers”. O laboratório 12 em dois lotes de *Mimosa caesalpiniaefolia*, sendo um outro lote considerado “outliers”, e em três lotes de *Pseudobombax tomentosum*, sendo que também para este o quarto lote foi considerado “outlier”. O laboratório 13 em dois lotes de

Enterolobium contortisiliquum, em três lotes de *Lafoensia pacari* e em um lote de *Peltophorum dubium* que possuía outro lote como sendo “outliers”. Para os demais laboratórios, dados discrepantes foram pontuais para espécie e lotes.

O diferente critério utilizado na avaliação de plântulas normais em detrimento do protocolo fornecido foi o principal fator de desvios apontados por esta estatística. Equipamentos mal calibrados, interrupção do fornecimento de luz, oscilações na temperatura nas câmaras de germinação, excesso de umidade no substrato, falta de sanidade na elaboração e leitura das repetições, entre outros fatores, também podem interferir nos resultados. O seguimento impreterível do protocolo e completa padronização dos testes são de fundamental importância para se ter repetibilidade e reprodutibilidade das metodologias. Variações no cumprimento deste influenciam a porcentagem de germinação e conseqüentemente a quantidade de plântulas normais.

A temperatura para a germinação de sementes apresenta grande influência tanto na porcentagem final de germinação como também na velocidade do processo germinativo (ANDRADE; PEREIRA, 1994). Nos testes realizados em laboratório, o substrato deve ser suficientemente umedecido para garantir o crescimento do embrião e a formação da plântula. A deficiência de água impossibilita a seqüência dos processos bioquímicos, físicos e fisiológicos que determinam a retomada do crescimento do embrião (MARCOS-FILHO, 1986). Por outro lado, o excesso é prejudicial porque dificulta a respiração, causando atraso ou paralisação do desenvolvimento ou, ainda, anormalidades nas plântulas, como a ausência de radículas e a aparência hialina das plântulas (MARCOS-FILHO et al., 1987). A padronização do volume de água que favoreça a germinação, conforme a espécie, provavelmente minimizaria as variações nos resultados dos testes (GENTIL; TORRES, 2001). O posicionamento correto das sementes no rolo de papel também é de grande importância na análise dos resultados, pois segundo Andrade e Pereira (1994) a normalidades podem ser causadas pelas dobras do rolo de papel toalha.

A estatística h de Mandel pode ser interpretada como um índice de reprodutibilidade, entretanto não leva em consideração a variância de repetibilidade e, portanto se difere da variância de reprodutibilidade (Equação 6). Valores elevados na estatística k não implicam necessariamente em valores elevados na estatística h , ou seja, o laboratório l pode não possuir repetibilidade, mas possuir reprodutibilidade. Isso ocorre quando o laboratório registra grandes variâncias nos resultados de plântulas normais, mas a média dos resultados obtidos pelo laboratório l (\bar{y}_{lj}) se aproxima da média geral dos resultados obtidos do lote l (\bar{y}_l). O inverso também ocorre, um laboratório pode ser repetitivo, mas não possuir reprodutibilidade

quando há padronização interna na execução do teste, porém uma padronização diferente da adotada pelos outros laboratórios.

Assim, a utilização de valores de repetibilidade e reprodutibilidade e constituem a chave para o processo de validação (BRITO et al., 2003) e contribuem para o monitoramento da precisão de metodologias, representando subsídios para a implementação de programas para a melhoria da qualidade em laboratórios de medições (CHUI et al., 2002).

5 CONCLUSÕES

As variâncias de repetibilidade foram menores em lotes de melhor qualidade, com exceção em *Pterogyne nitens* que apresentou menor variância de repetibilidade no lotes de baixa qualidade.

As variâncias de reprodutibilidade (S_{Rj}^2) foram menores em lotes de melhor qualidade para *Cybistax antisyphilitica*, *Enterolobium contortisiliquum*, *Guazuma ulmifolia*, *Lafoensia pacari*, *Mimosa caesalpiniaefolia*, e *Pseudobombax tomentosum* e menores em lotes de baixa qualidade para *Astronium fraxinifolium*, *Ceiba speciosa* e *Pterogyne nitens*. Apenas *Peltophorum dubium* apresentou variância de reprodutibilidade menor em um lote intermediário.

Uma variância de repetibilidade (S_{rj}^2) elevada não implica necessariamente em incremento da variância de reprodutibilidade (S_{Rj}^2). Nos lotes de número 2 de *Guazuma ulmifolia* e de *Mimosa caesalpiniaefolia* a variância de repetibilidade foi superior a variância de reprodutibilidade.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A.V.; BORTOLOZO, F.R.; MORAES, M.L.T.; SÁ, M.E.L. Determinação de parâmetros genéticos em população de gonçalo-alves (*Astronium fraxinifolium*) através das características fisiológicas da semente. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.60, p.89-97, 2001.
- ANDRADE, A.C.S.; PEREIRA, T. Efeito do substrato e da temperatura na germinação e no vigor de sementes de cedro - *Cedrela odorata* L. (Meliaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.16, n.1, p.34-40, 1994.
- AOSA. **Seed vigor testing handbook**. East Lansing: Association of Official Seed Analysts, 1983. 88p.
- AQUINO, A.F.M.A.G.; RIBEIRO, M.C.C.; PAULA, Y.C.M.; BENEDITO, C.P. Superação de dormência em sementes de orelha-de-negro (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong). **Revista Verde**, Mossoró, v.4, n.1, p.69-75, 2009.
- ARANGUREN, B.; DON, R.; DUFFY, G.; GRÉGOIRE, S.; MARTINELLI, A. Validation of tetrazolium method for *Brassica* spp. In: ISTA. **Method Validation Reports 01-2007**. Bassersdorf: International Seed Testing Association, 2007. p.53-62.
- ARTHUR, T.J.; TONKIN, J.H.B. Testando o vigor da semente. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.1, n.3, p.38-42, 1991.
- ASTM E691/92. **Standard practice for conducting an interlaboratory study to determine the precision of a test method**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1992. 20p.
- BARROS, C.B. Validação de métodos analíticos. **Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.175-177, 2002.
- BIANCHETTI, A.; RAMOS, A. Comparação de tratamentos para superar a dormência de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.). **Boletim de Pesquisa Embrapa Florestas**, Colombo, n.4, p.91-99, 1982.
- BRAGA JÚNIOR, J.M.; BRUNO, R.L.A.; ALVES, E.U. Emergência de plântulas de *Zizyphus joazeiro* Mart (Rhamnaceae) em função de substratos. **Revista Árvore**, Viçosa, v.34, n.4, p.609-616, 2010.
- BRASIL. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. 2009. 365p.
- BRITO, M.N.; AMARANTE-JÚNIOR, O.P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M.L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.13, p.129-146, 2003.
- CAMARGO, C.P. Atividades da ABRATES visando estimular a produção de sementes no Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.7, n.1, p.11-20, 1985.

- CAMPOS, P.M.; MUNIZ, J.A.; OLIVEIRA, M.S.; FERREIRA, D.F. Estimativa da repetibilidade e da reprodutibilidade de laboratórios e sua aplicação no controle de qualidade de análises do solo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.2, p.404-409, 1999.
- CARVALHO, L.R.; SILVA, E.A.A.; DAVIDE, A.C. Classificação de sementes florestais quanto ao comportamento no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.28, n.2, p.15-25, 2006.
- CARVALHO, P.E.R. **Mutamba - *Guazuma ulmifolia***. Colombo: Boletim de Pesquisa Embrapa Florestas. 2007. 13p.
- CASEIRO, F.R.; MARCOS FILHO, J. Métodos alternativos do teste de frio para avaliação do vigor de sementes de milho. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.3, p.459-466, 2000.
- CHUI, Q.S.H.; ANTONOFF, H.B.; OLIVIERI, J.C. Utilização de índices r e R obtidos de programas interlaboratoriais para o controle de precisão de método analítico: determinação de água por Karl Fischer. **Química Nova**, São Paulo, v.25, n.4, p.657-659, 2002.
- CHUI, Q.S.H.; BISPO, J.M.A.; IAMASHITA, C.O. O papel dos programas interlaboratoriais para a qualidade dos resultados analíticos. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.6, p.993-1003, 2004.
- COSTA, J.G.; ROCHA, G.M. **Organização e avaliação de comparações interlaboratoriais**. Xerém: Inmetro, 2005. 5p.
- DELOUCHE, J.C. Standardization of vigor tests. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v.1, p.75-85, 1976.
- DUCOURNAU, S.; GARREAU, P.; LÉCHAPPÉ, J. Effect of temperature and growing media on sunflower germination. **Seed Testing International**, Beaucauzé, n.135, p.34-36, 2008.
- DURIGAN, G.; FIGLIOLIA, M.B.; KAWABATA, M.; GARRIDO, M.A.O.; BAITELLO, J.B. **Sementes e mudas de árvores tropicais**. São Paulo: Páginas & Letras, 1997. 65p.
- EIRA, M.T.S.; FREITAS, R.W.A.; MELLO, C.M.C. Superação da dormência de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong – Leguminosae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.15, n.2, p.177-181, 1993.
- FANTI, S.C.; PEREZ, S.C.J.G.A. Tratamentos pré-germinativos em sementes de paineira (*Chorisia speciosa* St. Hil. - Bombacaceae). **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.9, n.1/2, p.163, 1999.
- FONSECA, S.G.C.; SILVA, L.B.L.; CASTRO, R.F.; SANTANA, D.P. Validação de metodologia analítica para doseamento de soluções de Lapachol por CLAE. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.1, p.157-159, 2004.
- GENTIL, D.F.O.; TORRES, S.B. Umedecimento do substrato e germinação de sementes de maxixe (*Cucumis anguria* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.23, n.2, p.113-116, 2001.

GONÇALVES, E.P.; PAULA, R.C.; DEMATTÊ, M.E.S.P.; SILVA, M.A.D. Potencial fisiológico de sementes de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.) em diferentes procedências. **Caatinga**, Mossoró, v.22, n.2, p.218-222, 2009.

GOUVEIA, E.R.; NASCIMENTO, R.T.; SOUTO-MAIOR, A.M. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, São Paulo, v.32, n.6, p.1500-1503, 2009.

GUERRA, M.P.; NODARI, R.O.; REIS, A.; GRANDO, J.L. Comportamento da canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert) em viveiro, submetida a diferentes métodos de quebra de dormência e semeadura. **Boletim de Pesquisa Embrapa Florestas**, Colombo, n.5, p.1-18, 1982.

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

ISO 5725- 2. **Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 2: Basic method for determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method**. Geneva: International Organization for Standardization. 1994. 42p.

ISO 9000. **Sistema de gestão da qualidade: fundamentos e vocabulário**. Rio de Janeiro: ABNT, 2000. 32p.

ISTA. **Method validation for seed testing**. Bassersdorf: International Seed Testing Association, 2007. 70p.

JOLY, C.A.; CRAWFORD, R.M.M. Germination and some aspects of the metabolism of *Chorisia speciosa* St. Hil. seeds under anoxia. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.6, n.2, p.85-90, 1983.

KAGEYAMA, P.Y.; SANCHEZ, S.P.A.; FERRAZ, E.M.; SOUZA, L.M.C. Armazenamento de sementes de três espécies nativas (*Tabebuia heptaphylla*, *Erythrina verna* e *Chorisia speciosa*). **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.4, n.2, edição especial, p.435-439, 1992.

KILLERMANN, B. New method for testing bitter seeds in lupin samples (*Lupinus* spp.). In: ISTA. **Method Validation Reports 01-2008**. Bassersdorf: International Seed Testing Association, 2008. p.61-68.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B. Testes de vigor em sementes. In: ENCONTRO SOBRE AVANÇOS EM TECNOLOGIA DE SEMENTES, 1991, Pelotas. **Anais...** Pelotas: FAEM-UFPel, p.97-103, 1991.

LIMA, A.A.A.; MEDEIROS FILHO, S.; TEÓFILO, E.M. Germinação de sementes de turco (*Parkinsonia aculeata* L.) e mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam.) em diferentes ambientes e submetidas a metodologias para superação da dormência. **Revista Científica Rural**, Bagé, v.8, n.1, p.46-54, 2003.

LIMA, V.V.F.; VIEIRA, D.L.M.; SEVILHA, A.C.; SALOMÃO, A.N. Germinação de espécies arbóreas de floresta estacional decidual do vale do rio Paraná em Goiás após três

tipos de armazenamento por até 15 meses. **Biota Neotropica**, Campinas, v.2, n.3, p.89-97, 2008.

LOPES, J.C.; DIAS, P.C.; MACEDO, C.M.P. Tratamentos para superar a dormência de sementes de *Ormosia arborea* (Vell.) Harms. **Brasil Florestal**, Brasília, DF, v.80, p. 25-35, 2004.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2ed. 2002. v.2, 368p.

LUPING, T.; SCHOUENBORG, B. Methodology of inter-comparison tests and statistical analysis of the test results - Nordtest Project No. 1483-99. **SP Report**, Borås, v.35, p.1-39. 2000.

MARCOS FILHO, J. Germinação de sementes. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1., 1986. Piracicaba. **Trabalhos apresentados...** Campinas: Fundação Cargill, p.11-39, 1986.

MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade fisiológica das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.

MARQUES, M.A.; RODRIGUES, T.J.D.; PAULA, R.C. Germinação de sementes de *Ormosia arborea* (Vell.) Harms submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos. **Científica**, Jaboticabal, v.32, n.2, p.141-146, 2004.

MARTINS NETTO, D.A.; FAIAD, M.G.R. Viabilidade e sanidade de sementes de espécies florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.17, n.1, p.75-80, 1995.

MELO, J.T.; RIBEIRO, J.F.; LIMA, V.L.G.F. Germinação de sementes de algumas espécies arbóreas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.1, n.2, p.8-12, 1979.

MENDONÇA, E.A.F; COELHO, M.F.B; LUCHESE, M. Teste de tetrazólio em sementes de mangaba-brava (*Lafoensia pacari* St. Hil. - Lythraceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.8, n.2, p.33-38, 2006.

MENEGHELLO, G.E.; MATTEI, V.L. Semeadura direta de timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum*), canafístula (*Peltophorum dubium*) e cedro (*Cedrela fissilis*) em campos abandonados. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.14, n.2, p. 21-27, 2004.

MOTTA, M.S.; DAVIDE, A.C.; FERREIRA, R.A. Longevidade de sementes de mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam. - Sterculiaceae) no solo em condições naturais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.28, n.2, p.7-14, 2006.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: Informativo ABRATES. 1999. p.1- 21.

- NASCIMENTO, W.M.O.; CRUZ, E.D.; MORAES, M.H.D.; MENTEN, J.O.M. Qualidade sanitária e germinação de sementes de *Pterogyne nitens* Tul. (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.28, n.1, p.149-153, 2006.
- NASSIF, S.M.L.; PEREZ, S.C.J.G.A. Efeito da temperatura na germinação de sementes de amendoim-do-campo (*Pterogyne nitens* Tul.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.22, n.1, p.1-6, 2000.
- NASSIF, S.M.L.; PEREZ, S.C.J.G.A. Germinação de sementes de amendoim-do-campo (*Pterogyne nitens* Tul.): influência dos tratamentos para superar a dormência e profundidade de semeadura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.29, n.2, p.171-178, 1997.
- NUNES, Y.R.F.; FAGUNDES, M.; SANTOS, M.R.; BRAGA, R.F.; GONZAGA, A.P.D. Germinação de sementes de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae) e *Heteropterys byrsonimifolia* A. Juss (Malpighiaceae) sob diferentes tratamentos de escarificação tegumentar. **Unimontes Científica**, Montes Claros, v.8, n.1, p.43-52, 2006.
- OLIVEIRA, E.C.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. Proposta para a padronização de metodologias em análise de sementes florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.11, n.1, p.1-42, 1996.
- OLIVEIRA, L.M.; DAVIDE, A.C.; CARVALHO, M.L.M. Avaliação de métodos para quebra da dormência e para a desinfestação de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (sprengel) taubert). **Revista Árvore**, Viçosa, v.27, n.5, p.597-603, 2003.
- OLIVEIRA, P.E.A.M.; PAULA, F.R. Fenologia e biologia reprodutiva de plantas de Mata de Galeria. In: RIBEIRO, J.F.; FONSECA, C.E.L.; SOUZA-SILVA, J.C. **Cerrado: caracterização e recuperação de matas de galeria**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. p.301-334.
- OLIVEIRA, P.E. Fenologia e Biologia reprodutiva das espécies de Cerrado. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P. **Cerrado: Ambiente e Flora**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 1998. p.162-192.
- OLIVEIRA, P.R.P.; CÍCERO, S.M. Causas de variação dos resultados das análises de sementes de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.). VI. Teste de Germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.18, n.1, p.122-128, 1996.
- ORTOLANI, F.A.; MATAQUEIRO, M.F.; MORO, J.R.; MORO, F.V.; DAMIÃO FILHO, C.F. Morfo-anatomia de plântulas e número cromossômico de *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart. (Bignoniaceae). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v.22, n.2, p.345-353, 2008.
- PEREZ, S.C.J.G.A.; FANTI, S.C.; CASALI, C.A. Dormancy break and light quality effects on seed germination of *Peltophorum dubium* Taub. **Revista Árvore**, Viçosa, v.23, n.2, p.131-137, 1999.
- PERRY, D.A. Report of the vigour test committee 1977-1980. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.9, n.1, p.115-126, 1981.

- PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; CONTTINI, R.H. Situação da pesquisa em tecnologia de sementes florestais no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 2, 1990, Colômbia. **Anais...** Colombia: CONIF, 1991. p.30-70.
- PIVETA, G.; LAZZAROTO, M.; MEZZOMO, R.; SANTOS, R.F.; GONZATTO, C.; WEBER, M.N.; MUNIZ, M.B. Efeito do tratamento térmico na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de *Lafoensia pacari* St. Hil. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Pelotas, v.4, n.2, p.1653-1657, 2009.
- RANGELINK, R.H.J.; REMEEUS, P.M. Germination test of *Cynara cardunculus* using optimal temperatures. In: ISTA. **Method Validation Reports 01-2008**. Bassersdorf: International Seed Testing Association, 2008. p.4-8.
- REMEEUS, P.M. Detection of *Aphelenchoides besseyi* Christie in *Oryza sativa* L. seeds. In: ISTA. **Method Validation Reports 01-2008**. Bassersdorf: International Seed Testing Association, 2008. p.54-60.
- RENNIE, W.J.; TOMLIN, M.N. Repeatability, reproducibility and interrelationship of results of tests on wheat seed samples infected with *Septoria nodorum*. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.12, n.3, p.863-880, 1984.
- RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.5, p.771-780, 2004.
- ROCHA, R. **Implementação de sistema gerencial, com avanços em controle estatístico, em laboratórios de nutrição animal**. 2004, 154f. Tese (Doutorado em Engenharia de Produção)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2004.
- ROGERS, C.B.W. A brief history of the development of the association of official seed analysts' rules for testing tree and shrub seeds. **Tree planter's notes**, Washington, v.18, n.2, p.147-148, 1967.
- RUS, P.; MELLING, E.; PEETZ, J. Determination of germination percentage and germination index-collaborative trial and ruggedness testing. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v.101, p.171-173, 1995.
- SALOMÃO, A.N.; SOUSA-SILVA, J.C.; DAVIDE, A.C.; GONZÁLES, S.; TORRES, R.A.A.; WETZEL, M.M.V.S.; FIRETTI, F.; CALDAS, L.S. **Germinação de sementes e produção de mudas e plantas do Cerrado**. Brasília: Rede de Sementes do Cerrado, 2003. 96p.
- SANTOS, M.F.; RIBEIRO, W.R.C.; FAIAD, M.G.R.; SALOMÃO, A.N. Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica das sementes de caroba (*Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.20, n.1, p.1-6, 1998.
- SANTOS, M.J.C.; NASCIMENTO, A.V.S.; MAURO, R.A. Germinação do amendoim bravo (*Pterogyne nitens* Tul) para utilização na recuperação de áreas degradadas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.3, n.1, p.31-34, 2008.

SCALON, S.P.Q.; MUSSURY, R.M.; WATHIER, F.; GOMES, A.A.; SILVA, K.A.; PIEREZAN, L.; SCALON FILHO, H. Armazenamento, germinação de sementes e crescimento inicial de mudas de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. **Acta Scientiarum Biological Science**, Maringá, v.27, n.2, p.107-112, 2005.

SENEME, A.M.; HOFFMAN, S.; POSSAMAI, E.; MORAIS, C.P. de. Germinação e qualidade sanitária de sementes de dedaleiro (*Lafoensia pacari* St. Hil., Lythraceae). **Scientia Agraria**, Curitiba, v.11, n.1, p.19-24, 2010.

SHEPPARD, J. W.; COCKERELL, V. **Handbook of method validation for the detection of seed born pathogens**. Bassersdorf: International Seed Testing Association, 2000. 132p.

SILVA, L.M.M.; MATOS, V.P.; PEREIRA, D.D.; LIMA, A.A. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de *Luetzelburgia auriculata* Duck (pau-serrote) e *Pterogyne nitens* Tul (madeira nova do brejo) – Leguminosae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.17, n.2, p.154-159, 1995.

SOBRINHO, S. P.; SIQUEIRA, A.G. Caracterização morfológica de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam. – Sterculiaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.30, n.1, p.114-120, 2008.

SOBRINHO, T.J.S.P.; SILVA, C.H.T.P.; NASCIMENTO, J.E.; MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U.P.; AMORIM, E.L.C. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.44, p.683-689, 2008.

SOUSA-SILVA, J.C.; RIBEIRO, J.F.; FONSECA, C.E.L.; ANTUNES, N.B. Germinação de sementes e emergência de plântulas de espécies arbóreas e arbustivas que ocorrem em Matas de Galeria. In: RIBERIO, J. F.; FONSECA, C.E.L.; SOUSA-SILVA, J. C. **Cerrado: caracterização e recuperação de matas de galeria**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. p.379-422.

TAVERNIERS, I.; LOOSE, M.; BOCKSTAELE, E.V. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. **Trends in Analytical Chemistry**, Belgium, v.23, n.8, p.535-552, 2004.

VALERI, S.V.; SILVA, M.L.; PAULA, R.C.; FONSECA, É.P. Efeitos de componentes de substratos na produção de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.). In: CONGRESSO E EXPOSIÇÃO INTERNACIONAL SOBRE FLORESTAS, 6., 2000. Porto Seguro. **Resumos Técnicos...** Rio de Janeiro: Instituto Ambiental Biosfera, 2000. p.119-120.

WAENY, J.C.C. **Repetitividade e reprodutividade**. São Paulo: IPT, 1980. 18p. (Série ACM,18)

WANG, F.K.; LI, E.Y. Confidence intervals in repeatability and reproducibility using the Bootstrap method. **Total Quality Management**, Abingdon, v.14, n.3, p.341-354, 2003.

WETZEL, M.M.V.S. **Época de dispersão e fisiologia de sementes do cerrado**. 1997. 173f. Tese (Doutorado em Ecologia). Universidade de Brasília, Brasília, DF. 1997.

WIELEWICKI, A.P.; LEONHARDT, C.; SCHLINDWEIN, G.; MEDEIROS, A.C.S. Proposta de padrões de germinação e teor de água para sementes de algumas espécies florestais presentes na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v.28, n.3, p.191-197, 2006.

ZAMITH, L.R.; SCARANO, F.R. Produção de mudas de espécies das restingas do município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Scientiarum Biological Science**, Maringá, v.18, n.1, p.161-176, 2004.