

NÚBIA ALMEIDA LEITE BRANDÃO

REPETITIVIDADE E REPRODUTIBILIDADE NA VALIDAÇÃO DE MÉTODOS
PARA TESTES DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós
graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração
em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Profa. Dra. Denise Garcia de Santana

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013

NÚBIA ALMEIDA LEITE BRANDÃO

REPETITIVIDADE E REPRODUTIBILIDADE NA VALIDAÇÃO DE MÉTODOS
PARA TESTES DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-
graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração
em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 01 de Março de 2013.

Profa. Dra. Flávia Andrea Nery Silva

UFU

Prof. Dr. Quintiliano Siqueira Schroden Nomelini

UFU

Prof. Dr. Marcelo Silva de Oliveira

UFLA

Profa. Dra. Denise Garcia de Santana
ICIAG - UFU
(Orientadora)

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013

Aos meus pais, Anderson e Neide.

Ao meu marido, Carlos Eduardo.

E a minha irmã, Milena.

AGRADECIMENTOS

Ao único Deus verdadeiro JEOVÁ.

Aos meus pais Anderson e Neide.

Ao meu marido Carlos Eduardo.

A minha irmã Milena.

A minha orientadora Denise Garcia de Santana.

Aos meus colegas e amigos do LASEF da UFU
e aos demais pesquisadores envolvidos direta ou indiretamente.

Aos laboratórios colaboradores.

Aos membros da banca examinadora.

A CAPES, ao CNPQ e a Fapemig pelo apoio financeiro.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1: Repetitividade e reprodutibilidade: aplicação na validação de métodos para testes de germinação de sementes	01
1 Introdução Geral	02
2 Revisão Bibliográfica	05
3 Referências	10
CAPÍTULO 2: Repetitividade e reprodutibilidade de testes de germinação de sementes de espécies florestais	13
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
1Introdução.....	16
2 Material e Métodos	19
2.1 Medidas absolutas e relativas de repetitividade e reprodutibilidade	23
2.2 Estatísticas k e h de Mandel	25
3 Resultado e Discussão	27
3.1 Medidas absolutas e relativas de repetitividade e reprodutibilidade	27
3.2 Estatísticas k e h de Mandel	34
4 Conclusões	39
5 Referências.....	40
CAPÍTULO 3: Estudo de R&R em processos de validação de métodos para teste de germinação de sementes de espécies florestais	45
RESUMO.....	46
ABSTRACT.....	47
1Introdução.....	48
2 Material e Métodos.....	51
3 Resultado e Discussão.....	58
4 Conclusões.....	70
5 Referências.....	71
ANEXOS	76

RESUMO

BRANDÃO, NÚBIA ALMEIDA LEITE. **Repetitividade e reprodutibilidade na validação de métodos para testes de germinação de sementes de espécies florestais.** 2013. 101p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais.¹

Em processo de validação de métodos, a Associação Internacional para Análise de Sementes quantifica repetitividade e reprodutibilidade por lote. Contudo, esse processo para análises de sementes é definido por um modelo de análise de variância com dois fatores e, neste, é recomendado o estudo de R&R. Independentemente se estimado por lote ou pelo modelo da análise de variância fatorial, repetitividade e reprodutibilidade de métodos validados para testes de germinação de sementes de espécies florestais brasileiras precisam ser quantificados e avaliados, sendo este o objetivo desta dissertação. Para isso, laboratórios receberam lotes de sementes de qualidades distintas e executaram testes de germinação conforme método e procedimentos propostos. Da análise de variância para plântulas normais com os fatores lote e laboratório e dos resultados por lote foram calculadas medidas absolutas e relativas de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R, além das estatísticas k e h de Mandel. As medidas absolutas e o percentual de contribuição das variâncias não são boas ferramentas para avaliar o desempenho de testes de germinação, pois a primeira não detecta as elevadas variações que ocorrem em testes envolvendo lotes de sementes de baixa qualidade e o segundo é influenciado pela variabilidade entre os lotes de sementes. As estatísticas k e h de Mandel auxiliam o processo apenas na identificação de laboratórios que não foram repetitivos ou reprodutivos, não permitindo inferências sobre a qualidade do método testado. O coeficiente de variação é capaz de detectar variações em testes de germinação em função da qualidade do lote de sementes, sendo menor em lotes de alta qualidade e maior à medida que a qualidade dos lotes diminuem. Sendo assim, os coeficientes de variação de repetitividade e de reprodutibilidade são recomendados para avaliar a variabilidade por lote de sementes e o coeficiente de variação de R&R, para avaliar o desempenho do método.

Palavras-chave: coeficientes de variação, estatísticas k e h , estudo de R&R, plântulas normais, porcentagem de contribuição.

¹ Orientadora: Denise Garcia Santana – UFU

ABSTRACT

BRANDÃO, NÚBIA ALMEIDA LEITE. **Repeatability and reproducibility in the validation of methods for testing germination of forest species.** 2013. 101p. Dissertation (Masters Degree in Agronomy/Crop Science) – Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais.¹

In the process of method validation, the International Association for Seed Analysis quantifies repeatability and reproducibility by lot. However, this process for seed analysis is defined by a analysis of variance model with two factors, and an R&R study is recommended. Regardless if estimated by lot or by factorial analysis of variance model, repeatability and reproducibility of validated methods for testing germination of Brazilian forest species need to be quantified and evaluated, this being the purpose of this dissertation. For this, laboratories received seed lots of distinct qualities and performed germination tests according to the methods and procedures proposed. From the analysis of variance for normal seedlings with the laboratory and batch factors and from batch results, we calculated absolute and relative measures of repeatability, reproducibility and R&R, besides Mandel's h and k statistics. The absolute measures and the contribution percentage of the variances are not good tools to evaluate germination performance, because the former does not detect the high variations occurring in tests involving lots of low quality seeds and the latter is influenced by the variability between seed lots. Mandel's h and k statistics assist the process only in identifying laboratories that were not repetitive or reproductive, not allowing inferences about the quality of the method tested. The coefficient of variation is able to detect variations in germination tests based on the quality of the seed lot, being smaller in high quality lots and greater as the quality of lots decreases. Thus, the repeatability variation and reproducibility coefficients are recommended to evaluate the variability by seed lot and the coefficient of variation of R&R to evaluate the performance of the method.

Keywords: coefficients of variation, contribution percentage, h and k statistics, normal seedlings, R&R study.

¹ Supervisor: Denise Garcia Santana – UFU

CAPÍTULO 1

REPETITIVIDADE E REPRODUTIBILIDADE: APLICAÇÃO NA VALIDAÇÃO DE MÉTODOS PARA TESTES DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES

1 INTRODUÇÃO GERAL

Recentemente foram estabelecidos como oficiais por meio de três Instruções Normativas, nº 44 de 23 de dezembro de 2010 (BRASIL, 2010), nº 35 de 14 de julho de 2011 (BRASIL, 2011) e nº 26 de 10 de setembro de 2012 (BRASIL, 2012), métodos para testes de germinação de sementes de 50 espécies florestais brasileiras. Para serem estabelecidos como oficiais, os métodos foram submetidos a um processo conhecido como validação. Tal padronização visa à uniformidade dos resultados, permitindo a comparação entre diferentes laboratórios (ANDRADE et al., 1999).

A estimativa da precisão (repetitividade e reprodutibilidade) do teste é um passo importante do processo de validação, embora às vezes esquecido e negligenciado (CARAGUEL et al., 2009). Como um componente da avaliação dos testes, as estimativas da repetitividade e reprodutibilidade de um ensaio são necessárias para avaliar a robustez e a transferência do método entre laboratórios (CARAGUEL et al., 2009).

Em análises laboratoriais, os modelos de análise de variância (ANAVA) têm sido utilizados para verificar a variabilidade associada a sistemas de medição e auxiliar a validação de métodos (FILIPE, 2007). Dentre as ferramentas utilizadas está o modelo da ANAVA com um fator ou com múltiplos fatores que decompõe as variâncias em repetitividade e reprodutibilidade (CHUI et al., 2004).

A análise de variância com um único fator é um dos modelos estatísticos recomendados quando os resultados de um programa interlaboratorial são utilizados para estudar o efeito devido à variabilidade de laboratórios (CHUI et al., 2004). O estudo de repetitividade e reprodutibilidade pelo método da análise de variância com um único fator é recomendado pela Sociedade Americana para Ensaio de Materiais (ASTM, 1992) e pela Organização Internacional de Padrões (ISO, 1994). Além da verificação da repetitividade e da reprodutibilidade, as normas internacionais também sugerem a análise das estatísticas k e h Mandel (1991) que identificam, respectivamente, laboratórios que não são repetitivos e que subestimam ou superestimam suas análises.

Em processo de validação de métodos para testes de germinação de sementes a Associação Internacional para Análise de Sementes (ISTA, 2007), que segue as normas da ISO5725-2 (1994), quantifica a repetitividade e a reprodutibilidade por lote ou por amostra correspondendo a um modelo de análise de variância de fator único, sendo este fator o laboratório. Contudo, na validação de métodos para análise de germinação de

sementes, a exigência do envio aos laboratórios de lotes com qualidades distintas caracteriza o modelo de análise de variância com dois fatores.

A estimação das variações de repetitividade e reprodutibilidade pelos componentes de variância de um modelo com dois fatores foi proposta por Hicks (1973). A combinação de dois fatores permite calcular a variabilidade de um sistema e dá origem ao estudo de R&R (PEDOTT, 2010). A avaliação de R&R detecta a influência dos operadores (reprodutibilidade) e a influência do equipamento (repetitividade) sobre a variação de uma série de medições (AIAG, 2002) que podem ser feitas em diferentes períodos de tempo, por diferentes operadores e com diferentes ajustes de processo (VIM, 2008). O estudo de R&R é um método de análise de sistemas de medição amplamente aplicado na indústria (BURDICK et al., 2005), também proposto para validação de métodos para testes de germinação de sementes (NOMELINI, 2012).

No estudo de R&R, a porcentagem que cada fator consome da variação total do sistema pode ser calculada e os valores expressos em porcentagem de contribuição (PEDOTT, 2010). Porcentagens de contribuição de R&R são consideradas aceitáveis se entre 0 e 10%; podem ser consideradas aceitáveis dependendo da importância de sua aplicação se entre 10% e 30%, e são considerado não aceitáveis se maior que 30% (REGO, 1995). Entretanto, não existem publicações sobre a porcentagem ideal de contribuição das variações de repetitividade e reprodutibilidade no estudo de germinação de sementes florestais (NOMELINI, 2012) e a ISTA (2007) que segue as orientações da ISO 5725-2 (1994) recomenda que repetitividade e reprodutibilidade sejam expressas em desvio padrão.

Apesar de recomendados pela ISTA (2007), os valores de desvio padrão de repetitividade e reprodutibilidade dependem da escala e da unidade de medição, sendo difícil comparar os valores com dados de validação anteriores (POWELL, 2009). Além disso, a interpretação dessas medidas pelos valores das variâncias não é simples, aparecendo a dificuldade de se decidir sobre qual laboratório ou lote apresenta-se inconsistência de resultados, sejam elas em relação à repetitividade ou a reprodutibilidade (NOMELINI, 2012).

Assim, a documentação que apóia os estudos de precisão em nível de reprodutibilidade e repetitividade deve incluir estimativas do desvio padrão absoluto e do desvio padrão relativo (RIBANI et al., 2004). Em detrimento das demais estimativas, o desvio padrão relativo ou coeficiente de variação de repetitividade e de

reprodutibilidade, é uma medida adimensional e tem por vantagem caracterizar a dispersão dos dados em relação ao valor médio.

O desvio padrão relativo, ou coeficiente de variação, de repetitividade e de reprodutibilidade são utilizados em processo de validação de métodos bioanalíticos (PEIXOTO-SOBRINHO et al., 2008; LOURENÇO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2008; WORTMANN, 2004) e analíticos (FONSECA et al., 2004; RIBANI et al., 2004; PASCHOAL et al., 2008; GOUVEIA et al., 2009), porém são pouco utilizados em tecnologia de sementes.

Independentemente se estimado por lote ou pelo modelo da análise de variância fatorial, repetitividade e reprodutibilidade de métodos validados para testes de germinação de sementes de espécies florestais brasileiras precisam ser quantificados em valores absolutos e relativos, e avaliados quanto à capacidade de medir a variabilidade em testes de germinação, sendo este o objetivo desta dissertação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Existe diversas maneira de se estimar a variabilidade de processos produtivos. Dentre as ferramentas utilizadas está o modelo da análise de variância com um fator ou com múltiplos fatores que decompõe as variâncias em repetitividade e reprodutibilidade (CHUI et al., 2004).

2.1 Estimativa de repetitividade e de reprodutibilidade pela análise de variância fatorial

Em análises de variância fatoriais, em que a esperança dos quadrados médios é utilizada para estimar as variâncias de laboratório, de lote e da interação, à estimativa da variância de repetitividade (σ_r^2), que representa a precisão dos resultados (Tabela 1), é igual ao quadrado médio do resíduo (QM_r), sendo definida por:

$$\hat{\sigma}_r^2 = QM_r \quad (1)$$

onde QM_r é o quadrado médio do resíduo da análise de variância.

Tabela 1. Quadro de análise de variância com dois fatores (lote e laboratório), causas de variação, graus de liberdade, soma de quadrados, quadrados médios, esperanças do quadrado médio e estatísticas F (HICKS, 1973).

Causas de variação ¹	gl	SQ	QM	$E(QM)$	F
Lote	$a - 1$	SQ_i	QM_i	$\sigma_r^2 + n_{ij}\sigma_I^2 + n_{ij}b\sigma_i^2$	$\frac{QM_i}{QM_r}$
Laboratório	$b - 1$	SQ_j	QM_j	$\sigma_r^2 + n_{ij}\sigma_I^2 + n_{ij}a\sigma_j^2$	$\frac{QM_j}{QM_r}$
Lote*Laboratório	$(a - 1)(b - 1)$	SQ_I	QM_I	$\sigma_r^2 + n_{ij}\sigma_I^2$	$\frac{QM_I}{QM_r}$
Resíduo	$ab(n_{ij} - 1)$	SQ_r	QM_r	σ_r^2	
Total	$n - 1$	SQ_T		σ_T^2	

¹ n e n_{ij} : número de parcelas e de repetições, respectivamente; a é o número de lotes, b o número de laboratórios; SQ_i , SQ_j , SQ_I , SQ_r e SQ_T soma de quadrados de lote, de laboratório, de interação, do resíduo e total, respectivamente; QM_i , QM_j , QM_I e QM_r : quadrado médio de lote, de laboratório, de interação e do resíduo, respectivamente; $E(QM)$: esperança do quadrado médio; e σ_i^2 , σ_j^2 , σ_I^2 , σ_r^2 e σ_T^2 : variâncias de lote, de laboratório, de interação, do resíduo (repetitividade) e total, respectivamente.

A estimativa da variância de reprodutibilidade ($\hat{\sigma}_R^2$), que fornece a acurácia do processo, é dada por:

$$\hat{\sigma}_R^2 = \hat{\sigma}_j^2 + \hat{\sigma}_I^2 \quad (2)$$

$$\text{sendo: } \hat{\sigma}_j^2 = \frac{QM_j - QM_I}{n_{ij}a} \text{ e } \hat{\sigma}_I^2 = \frac{QM_I - QM_r}{n_{ij}},$$

onde $\hat{\sigma}_j^2$ é a variância de laboratório, $\hat{\sigma}_I^2$ é a variância da interação, n_{ij} é o número de repetições, a é número de lotes e QM_j , QM_I e QM_r são os quadrados médios de laboratório, da interação e do resíduo, respectivamente.

A soma da variância de repetitividade (σ_r^2) e de reprodutibilidade ($\hat{\sigma}_R^2$) fornece a estimativa da variância de R&R ($\hat{\sigma}_{R\&R}^2$), que representa a exatidão do processo e é definida por:

$$\hat{\sigma}_{R\&R}^2 = \sigma_r^2 + \hat{\sigma}_R^2 \quad (3)$$

onde σ_r^2 é a variância de repetitividade e $\hat{\sigma}_R^2$ é a variância de reprodutibilidade.

2.2 Estimativa de repetitividade e de reprodutibilidade pela análise de variância por lote

Quando a estimativa de repetitividade e de reprodutibilidade é feita por lote, a variância de repetitividade (σ_r^2) continuará representando a precisão dos resultados sendo o quadrado médio do resíduo (Tabela 2).

$$\hat{\sigma}_r^2 = QM_r \quad (4)$$

onde QM_r é o quadrado médio do resíduo da análise de variância.

Tabela 2. Quadro de análise de variância com um fator (Laboratório), causas de variação, graus de liberdade, soma de quadrados, quadrados médios, esperança do quadrado médio e estatística F .

Causas de Variação ¹	gl	SQ	QM	E(QM)	F
Laboratório	$b-1$	SQ_j	QM_j	$\sigma_r^2 + n_j \sigma_j^2$	$\frac{QM_j}{QM_r}$
Resíduo	$b(n_j - 1)$	SQ_r	QM_r	σ_r^2	
Total	$n-1$	SQ_T		σ_T^2	

¹ n e n_j : número de parcelas e de repetições, respectivamente; b é o número de laboratórios; SQ_j , SQ_r e SQ_T soma de quadrados de laboratório, do resíduo e total, respectivamente; QM_j e QM_r : quadro médio de laboratório e do resíduo, respectivamente; $E(QM)$: esperança do quadrado médio; e σ_j^2 , σ_r^2 e σ_T^2 : variâncias de laboratório, do resíduo (repetitividade) e total, respectivamente.

Uma mudança conceitual e prática que ocorre quando as estimativas de repetitividade e de reprodutibilidade são feitas por lote (ISO 5725) se dá na estimativa da exatidão do processo, que neste caso será obtida pela variância de reprodutibilidade (σ_R^2) e não mais pela variância de R&R ($\sigma_{R\&R}^2$) (Tabela 3). Isso ocorre porque para obter a reprodutibilidade de uma análise realizada por lote, a variância de repetitividade, que estima precisão, é somada a variância entre laboratório ($\hat{\sigma}_j^2$), que estima acurácia, fornecendo assim a exatidão do método, conforme detalhado na equação (5).

$$\hat{\sigma}_R^2 = \hat{\sigma}_r^2 + \hat{\sigma}_j^2 \quad (5)$$

$$\text{sendo: } \hat{\sigma}_j^2 = \frac{QM_j - QM_r}{n_j}$$

onde $\hat{\sigma}_r^2$ a estimativa da variância de repetitividade, $\hat{\sigma}_j^2$ é a estimativa da variância entre laboratório, QM_j e QM_r são o quadrado médio de laboratório e do resíduo, respectivamente, e n_j é o número de repetições.

Tabela 3. Comparação entre os métodos da análise de variância utilizados para obtenção das estimativas de repetitividade e de reprodutibilidade de processos.

Método da ANAVA Fatorial (HICKS, 1973)			Método da ANAVA por fator lote (ISO 5725)	
Repetitividade	$\hat{\sigma}_r^2$	Precisão	Repetitividade	σ_r^2
Reprodutibilidade	$\hat{\sigma}_R^2$	Acurácia	Variância entre laboratórios	σ_j^2
R&R	$\hat{\sigma}_{R\&R}^2 = \hat{\sigma}_r^2 + \hat{\sigma}_R^2$	Exatidão	Reprodutibilidade	$\hat{\sigma}_R^2 = \hat{\sigma}_r^2 + \hat{\sigma}_j^2$

Segundo a ISO 5725 (1994), a variância de repetitividade (s_r^2) por fator lote, também pode ser obtida por:

$$s_r^2 = \frac{\sum_{j=1}^b (n_j - 1) s_j^2}{\sum_{j=1}^b (n_j - 1)}, \quad (6)$$

$$\text{sendo: } s_j^2 = \frac{\sum_{k=1}^{n_j} (y_{jk} - \bar{y}_j.)^2}{n_j - 1}$$

onde: b é o número de laboratórios; n_j é o número de repetições do j -ésimo laboratório; y_{jk} é a porcentagem de plântulas normais obtida do j -ésimo laboratório na k -ésima repetição; $\bar{y}_j.$ é o percentual médio de plântulas normais obtido pelo j -ésimo laboratório e n_j é o número de repetições.

A variância de reprodutibilidade (s_R^2) pode ser obtida por:

$$s_R^2 = s_r^2 + s_L^2, \quad (7)$$

$$\text{sendo: } s_L^2 = \frac{s_d^2 - s_r^2}{\bar{n}_k}, \quad s_d^2 = \frac{\sum_{j=1}^b n_j (\bar{y}_j. - \bar{y}_{..})^2}{b - 1} \quad \text{e} \quad \bar{n}_k = \frac{1}{(b - 1)} \left(\sum_{j=1}^b n_j - \frac{\sum_{j=1}^b n_j^2}{\sum_{j=1}^b n_j} \right)$$

onde: s_r^2 é a variância de repetitividade (equação 2); $\bar{y}_j.$ é o percentual médio de plântulas normais obtido pelo j -ésimo laboratório; $\bar{y}_{..}$ é a média geral do percentual de plântulas normais; n_j é o número de repetições do j -ésimo laboratório; b é o número de laboratórios; $\bar{n}_k = n_j$ para dados balanceados (mesmo número de repetições) e $\bar{n}_k \neq n_j$ para dados desbalanceados (número diferente de repetições).

Por analogia com a nomenclatura proposta pela ISO 5725 (1994), a estimativa pela Esperança do Quadrado Médio $E(QM)$ da análise de variância realizada por lote, s_r^2 corresponde a variância residual de repetitividade (σ_r^2); s_L^2 corresponde a variância de laboratórios (σ_j^2) e s_d^2 é o quadrado médio de laboratórios (QM_j) (Tabela 4).

Tabela 4. Correspondentes das equações de repetitividade, variância entre laboratórios e reprodutibilidade da ISO 5725 (1994) estimados pela Esperança do Quadrado Médio $E(QM)$.

Equação ISO 5725 (1994)		Estimativa pela E(QM)
Repetitividade	$s_r^2 = \frac{\sum_{j=1}^b (n_j - 1)s_j^2}{\sum_{j=1}^b (n_j - 1)}$	$\hat{\sigma}_r^2 = QM_r$
Variância entre laboratórios	$s_L^2 = \frac{s_d^2 - s_r^2}{\bar{n}_k}$	$\hat{\sigma}_j^2 = \frac{QM_j - QM_r}{n_j}$
Reprodutibilidade	$s_R^2 = s_r^2 + s_L^2$	$\hat{\sigma}_R^2 = \hat{\sigma}_r^2 + \hat{\sigma}_j^2$

3 REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Brasília: Ministro de Estado da Saúde, 2012. 23p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **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.

ANDRADE, A.C.S.; LOUREIRO, M.B.; SOUZA, A.D.O.; RAMOS, F.N.; CRUZ, A.P.M. Reavaliação do efeito do substrato e da temperatura na germinação de sementes de palmitero. **Revista Árvore**, Viçosa, v.23, n.3, p.279-288, 1999.

AUTOMOTIVE INDUSTRY ACTION GROUP (AIAG). **Measurement systems analysis reference manual**. 3ed. Southfield: Chrysler Corporation, Ford Motor Company and General Motors Corporation, 2002. 239p.

BRASIL. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções normativas nº26 de 10 de setembro de 2012**. Brasília: Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2012.

BRASIL. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções normativas nº35 de 14 de julho de 2011**. Brasília: Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2011.

BRASIL. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções normativas nº44 de 23 de dezembro de 2010**. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2010.

BURDICK, R.K.; BORROR, C.M; MONTGOMERY, D.C.A. Review of methods for measurement systems capability analysis. **Journal of Quality Technology**, Milwaukee, v.35, p.342-354, 2003.

CARAGUEL, C.; STRYHN, H.; GAGNÉ, N.; DOHOO, I.; HAMMELL, L. Traditional descriptive analysis and novel visual representation of diagnostic repeatability and reproducibility: Application to an infectious salmon anaemia virus RT-PCR assay. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.92, n.2, p.9-19, 2009.

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.

FILIPE, E. Validação dos métodos de calibração nos laboratórios nacionais de metrologia. In: ENCONTRO DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE METROLOGIA, v.1, 2007, Caparica. **Anais...** Caparica: Instituto Português da Qualidade, 2007. 11p.

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.

GOUVEIA, E.R.; NASCIMENTO, R.T.; SOUTO MAIOR, A.M.; ROCHA, G.J.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.

HICKS, C.R. **Fundamental concepts in the design of experiment**. 2ed. New York: Holt, Rinehart and Winston, 1973. 349p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **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.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). **Method validation for seed testing**, Bassersdorf: International Seed Testing Association, 2007. 70p.

INTERNATIONAL VOCABULARY OF METROLOGY (VIM). **Basic and general concepts and associated terms**. 3ed. Geneva: International Organization for Standardization, 2008. 80p.

LOURENÇO, F.R.; SILVA, A.C.D.; YAMAMOTO, R.N.; PINTO, T.J.A. Validação de método de doseamento para aciclovir e aplicação em estudo de equivalência farmacêutica de creme contendo aciclovir. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v.30, n.3, p.273-276, 2009.

MANDEL, J. The validation of measurement through interlaboratory studies. **Chemometrics and intelligent laboratory systems**. Gaithersburg: National Institute of Standards and Technology, n.11, p.109-119, 1991.

NOMELINI, Q.S.S. **Enfoque estatístico na validação de métodos para teste de germinação de sementes florestais**. 2012. 171f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

OLIVEIRA, L.S.; SOUSA, S.J.G.; SILVA, R.V.; UCHOA, P.I.P.; CORREIA, P.P.B. PELLEGRINOTTI, I.L.; BATISTA, G.R. Validação e reprodutibilidade de plataforma de salto com laser para altura do salto em voleibolistas. **Conexões: educação, esporte, lazer**, Campinas, v.6, ed. especial, p.111-121, 2008.

PASCHOAL, J.A.R.; RATH, S.; AIROLDI, F.P.S.; REYES, F.G.R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**, São Paulo, v.31, n.5, p.1190-1198, 2008.

PEDOTT, A.H. **Análise de dados funcionais aplicada ao estudo de repetitividade e reprodutibilidade: ANOVA das distâncias**. 2010. 131f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

PEIXOTO-SOBRINHO, T.J.S.; SILVA, C.H.T.P.; NASCIMENTO, J.E.; MONTERIO, 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**, v.44, n.4, p.683-689, 2008.

POWELL, A. A. Evaluation of the controlled deterioration test as a repeatable and reproducible vigour test for *Brassica* species. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.92-123. 2009.

REGO, J.R; COSTA NETO, P.L.O. Avaliação de sistemas de medição utilizando quadrados latinos. **Gestão e Produção**, São Carlos, v.2, n.1, p. 70-86, 1995.

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.

WORTMANN, A.C. **Quantificação de ferro em tecido hepático através de espectroscopia por absorção atômica**: Validação do método com fígado bovino e avaliação comparativa entre tecido fresco e tecido conservado em parafina. 2004. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência em Gastroenterologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

CAPÍTULO 2

REPETITIVIDADE E REPRODUTIBILIDADE DE TESTES DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS

RESUMO: Acurácia e precisão de métodos são garantidas de um processo denominado de validação, ainda recente na pesquisa com sementes, especialmente com espécies florestais, porém importante para a consolidação do sistema de produção. A motivação dessa pesquisa foi a necessidade de estudar as variações absolutas e relativas de repetitividade e de reprodutibilidade e estabelecer valores de referência para coeficientes de variação. Também foi objetivo, detectar laboratórios com variabilidade acima dos limites críticos pelas estatísticas k e h de Mandel de métodos validados para teste de germinação de sementes de 50 espécies florestais. Lotes de sementes com qualidade distinta foram enviados para laboratórios que executaram testes de germinação conforme método e procedimentos propostos. Dos resultados de plântulas normais por lote e laboratório foram calculadas medidas absolutas e relativas de repetitividade e reprodutibilidade, além das estatísticas k e h de Mandel. A variância e o desvio padrão são medidas estatísticas indicadas para medir a variabilidade de testes de germinação com sementes de espécies florestais para lotes de alta qualidade, porém é pouco eficaz à medida que a qualidade do lote declina. Coeficientes de variação de repetitividade e reprodutibilidade são capazes de detectar as elevadas variações que ocorrem em lotes de sementes de baixa qualidade e ponderar as variações nos lotes de qualidade intermediária. Coeficientes ótimos representam 58% em repetitividade e 53% em reprodutibilidade. As estatísticas k e h de Mandel auxiliam o processo de validação de métodos apenas na identificação de laboratórios que não foram repetitivos ou reprodutivos, não permitindo inferências sobre a qualidade do método. Embora o cunho pessoal do analista na execução do método para superação de dormência das sementes possa ser fonte de variabilidade, falta de reprodutibilidade não é uma particularidade das sementes dormentes. Provavelmente, a grande incidência de fungos seja a principal causa dos problemas de repetitividade e de reprodutibilidade encontrados com as espécies florestais.

Palavras-chave: coeficiente de variação, desvio padrão, estatísticas h e k de Mandel sementes florestais, validação.

ABSTRACT: Method accuracy and precision are guaranteed through a process called validation, still recent in seed research, especially for forest species, but important for the consolidation of the production system. The reason for this research was the need to study repeatability and reproducibility absolute and relative variations and establish reference values for coefficients of variation. Another objective was to detect laboratories with variability above the critical limits for Mandel's h and k statistics for validated methods of germination testing of 50 forest species. Lots of seeds with distinct quality were sent to different laboratories that performed germination tests according to proposed methods and procedures. From the results of normal seedlings by lot and laboratory, we calculated repeatability and reproducibility absolute and relative measures, besides Mandel's h and k statistics. Variance and standard deviation are statistical measures indicated to measure the variability of germination tests with seeds of forest trees for lots of high quality, but it is less effective as lot quality declines. Coefficients of variation of repeatability and reproducibility are able to detect the high variations occurring in lots of low quality seeds and consider variations in lots of intermediate quality. Optimal coefficients are 58% for repeatability and 53% for reproducibility. Mandel's h and k statistics help the method validation process only in identifying laboratories that were not repetitive or reproductive, not allowing inferences about the quality of the method. Although the personal touch of the analyst in implementing the method for overcoming seed dormancy can be a source of variability, lack of reproducibility is not a peculiarity of dormant seeds. Probably, the high incidence of fungi is the main cause of the problems of repeatability and reproducibility found with forest species.

Keywords: coefficient of variation, forest seeds, Mandel's h and k statistics, standard deviation, validation.

1 INTRODUÇÃO

Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve ser submetido a uma avaliação denominada de validação. A validação é um processo contínuo que começa no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo desenvolvimento e transferência (RIBANI et al., 2004). Especialmente para sementes, Friedrich Nobbe³, em 1877, iniciou os primeiros testes comparativos com sementes de grama-azul (*Poa pratensis* L.) sendo considerado o primeiro registro de validação e, desde então, procedimentos de validação têm sido parte das atividades da Associação Internacional para Análise de Sementes (STEINER; KRUSE, 2007; STEINER et al., 2008).

No Brasil, métodos para teste de germinação de sementes para 50 espécies florestais foram submetidos à validação e oficializados pelas Instruções Normativas, nº 44 de 23 de dezembro de 2010 (BRASIL, 2010), nº 35 de 14 de julho de 2011 (BRASIL, 2011) e nº 26 de 10 de setembro de 2012 (BRASIL, 2012). Essa oficialização visa à disponibilidade, a padronização e a inclusão mais significativa de métodos para teste de germinação de sementes de espécies florestais brasileiras nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). A inclusão de espécies nas RAS garante um conjunto de procedimentos padronizados para a análise de sementes indispensável para avaliação da sua qualidade quanto à composição do lote e a sua capacidade germinativa para fins de semeadura (ANDRADE et al., 1999).

Nas RAS (BRASIL, 2009) estão descritos muitos métodos para teste de germinação de sementes de espécies cultivadas, poucos para espécies florestais de clima temperado e quase inexistentes para sementes de espécies florestais tropicais, especialmente as nativas do Brasil. Internacionalmente, desde 1954 espécies arbóreas florestais figuram nas Regras Internacionais para Análise de Sementes (STEINER; KRUSE, 2007). Mesmo assim, do primeiro registro de validação com sementes de espécies cultivadas em 1877 a inclusão das florestais em 1954, se passaram quase 80 anos.

³ Ph.D. em Química Agrícola, Dr. Johann Cristian Friedrich Nobbe nasceu em Bremen, Alemanha em 1830; formado em Ciências Naturais, Especialista em Botânica Agrícola, com pesquisas em Nutrição Mineral de plantas, especialmente com *Rhizobium*, além de tecnologia e fisiologia de sementes (STEINER; KRUSER, 2007)

Parte dessa defasagem no Brasil e no Mundo se deve ao pequeno impacto do comércio das sementes de espécies florestais nas últimas décadas principalmente para plantios em pequena escala. Contudo, o interesse na propagação de espécies florestais nativas brasileiras aumentou a demanda por sementes (ARAÚJO NETO et al., 2003) e com esse aumento cresceu também o monitoramento de cada fase do processo produtivo para produção com alta qualidade (ALVES et al., 2005).

Diferente da validação de outros processos produtivos não biológicos, sementes são uma situação particular porque o processo depende da resposta fisiológica, ecológica e genética. Nestes casos, há maior aceitação de variação, porém há de se considerar que existem fatores a serem monitorados. Entre as formas de medir essas variações estão as estimativas da repetitividade e reprodutibilidade que avaliam a precisão e a exatidão, respectivamente (ISTA, 2007). Embora muito usuais, deve-se distinguir o uso destas estimativas para a avaliação da qualidade dos laboratórios, os chamados testes de proficiência, da avaliação da qualidade de um método (KOWALEWSKI, 1994).

As expressões usuais de variâncias de repetitividade e reprodutibilidade, incluindo estatísticas k e h de Mandel para detecção de variabilidades acima dos limites críticos, descritas na ISO 5725-2 (1994), são preferencialmente expressas na forma de desvio padrão por serem de fácil interpretação (PEDOTT, 2010). Entretanto, Ribani et al. (2004) defendem que estudos de reprodutibilidade devem incluir estimativas de desvios padrão relativo e absoluto, além do intervalo de confiança e, de repetitividade, o desvio padrão relativo. Há de se considerar que as medidas de repetitividade e reprodutibilidade têm como pressupostos a distribuição normal dos dados e a variância constante (ROBERTS; KOENRAADT, 2003), condição nem sempre garantida com o conjunto de dados. Segundo as normas internacionais para a padonização, repetitividade e reprodutibilidade devem ser expressos em desvio padrão (ISO, 1994) e, segundo a ISTA (2007), obtidos por lote.

Em detrimento das demais estimativas, o desvio padrão relativo ou o coeficiente de variação são medidas adimensionais e têm por vantagem caracterizar a dispersão dos dados em relação ao valor médio. Os coeficientes de variação de repetitividade e de reprodutibilidade são utilizados na validação de métodos em diversas áreas como biomédica (PEIXOTO-SOBRINHO et al., 2008; LOURENÇO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2008; WORTMANN, 2004) e química (FONSECA et al., 2004; RIBANI et al.

2004; PASCHOAL et al., 2008; GOUVEIA et al., 2009), porém pouco utilizados em tecnologia de sementes.

Mesmo sendo uma medida adimensional, o coeficiente de variação exige valores de referência e foi considerado, por Azeredo et al. (2008), adequado com até 15% de variabilidade e inadequado quando acima de 15%. A Associação Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 2000) estabelece limites aceitáveis para coeficientes de variação de repetitividade e reprodutibilidade para a validação de métodos analíticos. Ainda segundo a Associação, quanto menor a concentração das soluções maior é o coeficiente de variação de repetitividade e de reprodutibilidade, podendo atingir até 20% e 32%, respectivamente.

A motivação dessa pesquisa foi a necessidade de estudar as variações absolutas e relativas de repetitividade e de reprodutibilidade, de estabelecer valores de referência para coeficientes de variação e de detectar laboratórios com variabilidade acima dos limites críticos pelas estatísticas k e h de Mandel de métodos validados para teste de germinação de sementes de 50 espécies florestais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Métodos para teste de germinação de sementes de 50 espécies florestais nativas foram oficializados pelas Instruções Normativas nº 44 de 23 de dezembro de 2010 (BRASIL, 2010), nº 35 de 14 de julho de 2011 (BRASIL, 2011), e nº 26 de 10 de setembro de 2012 (BRASIL, 2012). No processo, no mínimo três lotes de sementes com qualidades distintas foram enviados para no mínimo seis laboratórios credenciados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento acompanhados de protocolos com o detalhamento do método para execução de teste de germinação (Figura 1A), incluindo normalidades e anormalidades de plântulas (Figura 2A), fichas de análise (Figura 3A) e casualização (Figura 4A).

Após a execução dos testes de germinação pelos laboratórios, análises estatísticas para os percentuais de plântulas normais foram realizadas para 50 espécies florestais indicando atendimento das pressuposições de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias por Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, do modelo de análise de variância, algumas com transformação do tipo angular. O modelo de análise de variância para o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial lote vs laboratório (equação 1) foi aplicado por espécie e indicou diferença significativa entre lotes, e interação lote vs laboratório e efeito de laboratório não significativos, condições essenciais para a validação dos métodos (Tabela 1).

Tabela 1. Métodos validados para teste de germinação de sementes de 50 espécies florestais brasileiras.

Espécie Botânica	Substrato	Temperatura em °C	Contagem em dias			Instruções adicionais incluindo recomendações para superar dormência [#]
			1	2	Final	
<i>Acacia polyphylla</i>	RP	25	7	-	14	113
<i>Albizia hassleri</i> *	RP	25	7	-	14	115, 118 e 115
<i>Anadenanthera colubrina</i>	RP	25	4	-	10	69, 113
<i>Anadenanthera macrocarpa</i>	RP	25	4	-	10	113 e 69
<i>Apuleia leiocarpa</i> *	RP	25	7	-	10	121, 118 e 115
<i>Astronium fraxinifolium</i>	RP	25	7	-	10	113
<i>Cariniana estrellensis</i>	RP	25	14	-	28	119, 113 e 115
<i>Cariniana legalis</i>	RP	25	14	-	28	125, 113 e 115
<i>Cassia leptophylla</i> *	RP	25	10	-	14	113, 120, 131, 120 e 51
<i>Cedrela fissilis</i>	RP	25	14	-	21	115
<i>Cedrela odorata</i>	RP	25	14	21	28	115
<i>Ceiba speciosa</i>	RP	25	7	-	10	115 e TS
<i>Citharexylum myrianthum</i>	RP	25	21	-	35	113, 121
<i>Copaifera langsdorffii</i>	RP	25	14	21	28	120, 124 e 120
<i>Cordia americana</i>	AS	25	10	-	17	113
<i>Cybistax antisiphilitica</i>	RP	25	14	-	35	113
<i>Dalbergia miscolobium</i>	RP	25	7	-	10	113 e 115
<i>Dalbergia nigra</i>	RP	25	10	-	14	113 e 120
<i>Enterolobium contortisiliquum</i> *	RP	25	7	-	14	116 e 113
<i>Enterolobium maximum</i>	RP	25	7	-	14	121, 124, 132 e 126
<i>Erythrina speciosa</i> *	RP	25	7	-	14	122, 129 e 120
<i>Gallesia integrifolia</i>	RP	25	10	-	17	69, 130 e 113
<i>Guazuma ulmifolia</i> *	SP	25	7	14	21	117, 119 e 113

Continuação...

Espécie Botânica	Substrato	Temperatura em °C	Contagem em dias			Instruções adicionais incluindo recomendações para superar dormência [#]
			1	2	Final	
<i>Handroanthus aureus</i>	RP	25	10	15	21	113
<i>Handroanthus chrysotrichus</i>	RP	25	7	-	14	113
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	RP	25	14	-	21	120
<i>Handroanthus roseo-albus</i>	RP	25	10	-	17	113
<i>Hymenaea courbaril</i> *	RP	25	21	-	28	133, 115, 116, 115, 89 e 113
<i>Hymenaea stigonocarpa</i> *	RP	25	21	-	28	133, 115, 116, 115, 89 e 113
<i>Jacaranda cuspidifolia</i>	RP	25	21	-	28	113
<i>Jacaranda micrantha</i>	RP	25	21	28	42	113 e 69
<i>Lafoensia pacari</i>	RP	25	14	-	21	113
<i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	RP	25	5	-	10	113, 118 e 113
<i>Mimosa scabrella</i> *	RP	25	5	-	10	120, 128, 51 e 120
<i>Ormosia arborea</i> *	RP	25	21	-	28	120, 123, 120 e 51
<i>Parapiptadenia rigida</i>	RP	25	7	-	14	113
<i>Parkia pendula</i> *	RP	30	7	-	14	120, 119, 118 e 120
<i>Peltogyne confertiflora</i>	RP	25	21	-	28	120 e 51
<i>Peltophorum dubium</i> *	RP	25	7	-	14	118 e 113
<i>Platymenia reticulata</i> *	RP	25	10	-	16	122, 118 e 115
<i>Pseudobombax tomentosum</i>	RP	25	10	-	17	114 e TS
<i>Pterogyne nitens</i> *	RP	25	7	-	14	115, 118 e 113
<i>Qualea grandiflora</i>	RP	25	28	-	35	113
<i>Schinus terebinthifolius</i>	SP	25	10	-	18	113
<i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> *	RP	25	7	-	10	115, 116, 115, 51, 119 e 113
<i>Senna macranthera</i> *	RP	25	7	-	14	120, 118 e 120

Continuação...

Espécie Botânica	Substrato	Temperatura em °C	Contagem em dias			Instruções adicionais incluindo recomendações para superar dormência [#]
			1	2	Final	
<i>Senna multijuga</i> *	RP	25	4	-	7	120, 127 e 120
<i>Stryphnodendron barbadetimam</i> *	RP	25	10	-	14	132, 131 e 132
<i>Stryphnodendron polyphyllum</i> *	RP	25	10	-	14	120, 131 e 120
<i>Zeyheria tuberculosa</i>	RP	25	14	-	21	120

* Espécies com sementes dormentes. [#] As instruções adicionais para os testes de germinação de sementes e as recomendações para superar dormência, encontram-se nas Regras Brasileiras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009) e nas Instruções Normativas nº 44 de 23 de dezembro de 2010 (BRASIL, 2010), nº 35 de 14 de julho de 2011 (BRASIL, 2011) e nº 26 de 10 de setembro de 2012 (BRASIL, 2012).

O método foi validado com base no modelo clássico de análise de variância, com dois fatores e interação, definido por:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + \varepsilon_{ijk} \text{ para } i = 1, 2, 3, \dots, a; j = 1, 2, 3, \dots, b; k = 1, 2, 3, \dots, n_{ij} \quad (1)$$

onde y_{ijk} é a porcentagem de plântulas normais obtida do i -ésimo lote, j -ésimo laboratório na k -ésima repetição; μ é o percentual médio de plântulas normais; α_i é o efeito do i -ésimo lote; β_j é o efeito do j -ésimo laboratório; γ_{ij} é o efeito da interação do j -ésimo laboratório no i -ésimo lote; ε_{ijk} é o resíduo independente e normalmente distribuído; a é número de lotes, b é o número de laboratórios e n_{ij} é o número de repetições do i -ésimo lote e j -ésimo laboratório.

2.1 Medidas absolutas e relativas de repetitividade e reprodutibilidade

Medidas de repetitividade e reprodutibilidade por lote (ISTA, 2007) foram expressas em desvio, variância e coeficientes de variação, utilizando em todas as expressões matemáticas a mesma notação da equação 1. A variância de repetitividade (s_r^2), expressa em porcentagem ao quadrado de plântulas normais, representou a variabilidade entre repetições para um mesmo lote e espécie, sendo definida por (ISO, 1994):

$$s_r^2 = \frac{\sum_{j=1}^b (n_j - 1) s_j^2}{\sum_{j=1}^b (n_j - 1)}, \quad \text{sendo: } s_j^2 = \frac{\sum_{k=1}^{n_j} (y_{jk} - \bar{y}_j)^2}{n_j - 1} \quad (2)$$

onde: b é o número de laboratórios; n_j é o número de repetições do j -ésimo laboratório; y_{jk} é a porcentagem de plântulas normais obtida do j -ésimo laboratório na k -ésima repetição e $\bar{y}_j$ é o percentual médio de plântulas normais obtido pelo j -ésimo laboratório.

A variância de reprodutibilidade (s_R^2), expressa em porcentagem ao quadrado de plântulas normais, representou a variabilidade dos percentuais médios de plântulas normais entre laboratórios para um mesmo lote e espécie e foi obtida pela expressão:

$$s_R^2 = s_r^2 + s_L^2, \quad (3)$$

$$\text{sendo: } s_L^2 = \frac{s_d^2 - s_r^2}{\bar{n}_k}, \quad s_d^2 = \frac{\sum_{j=1}^b n_j (\bar{y}_j - \bar{y}_{..})^2}{b-1} \quad \text{e} \quad \bar{n}_k = \frac{1}{(b-1)} \left(\sum_{j=1}^b n_j - \frac{\sum_{j=1}^b n_j^2}{\sum_{j=1}^b n_j} \right)$$

onde: s_r^2 é a variância de repetitividade (equação 2); $\bar{y}_j$ é o percentual médio de plântulas normais obtido pelo j -ésimo laboratório; $\bar{y}_{..}$ é a média geral do percentual de plântulas normais; n_j é o número de repetições do j -ésimo laboratório; b é o número de laboratórios; $\bar{n}_k = n_j$ para dados balanceados (mesmo número de repetições) e $\bar{n}_k \neq n_j$ para dados desbalanceados (número diferente de repetições).

A partir das variâncias foram calculados os desvios padrão de repetitividade (s_r) e de reprodutibilidade (s_R), ambos expressos em porcentagem de plântulas normais e, com a divisão pelos percentuais médios de plântulas normais ($\bar{y}_{..}$) foram obtidos os coeficientes de variação de repetitividade por: $CV_r = \frac{s_r}{\bar{y}_{..}} 100$ e de reprodutibilidade

por: $CV_R = \frac{s_R}{\bar{y}_{..}} 100$, ambos também expressos em porcentagem.

Valores de referência para os coeficientes de variação de repetitividade e de reprodutibilidade foram considerados ótimos quando menores a 15% ($CV \leq 15\%$), para ambas as estatísticas, independentemente da qualidade do lote de sementes; bons entre $15\% \leq CV < 30\%$, para lotes com até 60% de plântulas normais e regulares para lotes com mais de 60% (Figura 1). Para lotes com até 40% de plântulas normais foram considerados regulares entre $30\% \leq CV < 45\%$ e ruins para lotes com mais de 40% de percentual de plântulas normais. Entretanto, independentemente do percentual de plântulas normais foram considerados ruins quando os coeficientes foram superiores a 45% ($CV \geq 45\%$).

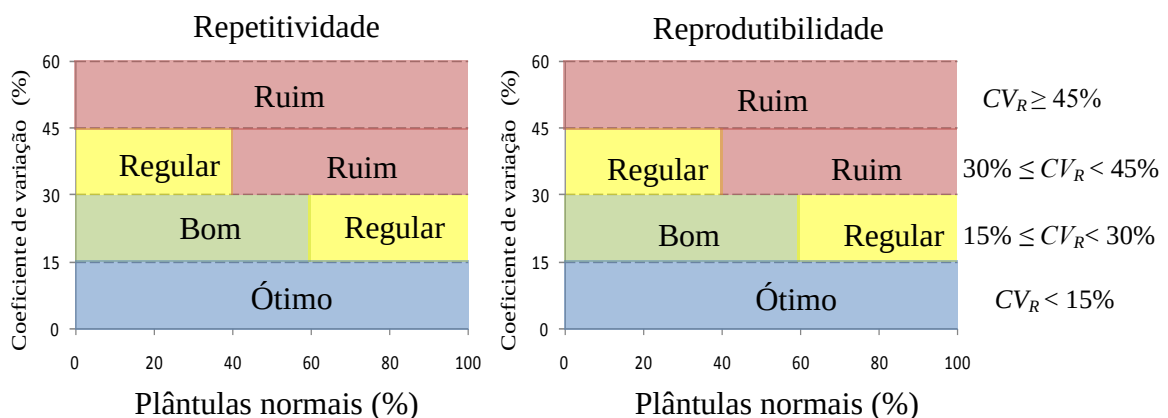


Figura 1. Adjetivos para intervalos de coeficientes de variação de repetitividade e reprodutibilidade em função do percentual de plântulas normais obtido do processo de validação de métodos para testes de germinação de sementes de espécies florestais nativas.

2.2 Estatísticas k e h de Mandel

A verificação da precisão e a acurácia dos resultados de plântulas normais de cada um dos laboratórios foi feita com base nas estatísticas k e h de Mandel e os seus respectivos valores críticos. O valor k , dado pela razão entre o desvio padrão de plântulas normais de cada laboratório e o desvio padrão de repetitividade por lote, identificou laboratórios que apresentaram diferenças entre repetições de plântulas normais acima do limite crítico. A estatística do teste é definida por Mandel (1991):

$$k_j = \frac{s_j}{s_r}, \quad \text{sendo: } s_r = \sqrt{s_r^2}; \quad s_j = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^{n_j} (y_{jk} - \bar{y}_{j.})^2}{n_j - 1}}$$

onde: k_j é o valor da estatística de Mandel para o j -ésimo laboratório; s_j é o desvio padrão do j -ésimo laboratório; s_r é o desvio padrão de repetitividade; y_{jk} é a porcentagem de plântulas normais obtida do j -ésimo laboratório na k -ésima repetição; $\bar{y}_{j.}$ é o percentual médio de plântulas normais obtido pelo j -ésimo laboratório e n_j é o número de repetições do j -ésimo laboratório. O limite crítico para todos os laboratórios para um mesmo lote é definido por:

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

onde $F_{(\alpha, n_1, n_2)}$ é o quantil $100(1-\alpha)\%$ da distribuição F de Snedecor com $n_1 = n_j - 1$ e $n_2 = (b-1)(n_j - 1)$ graus de liberdade para uma significância α ($\alpha = 0,05$ ou $\alpha = 0,01$); b é o número de laboratórios e n_j é o número de repetições.

A estatística h indicou laboratórios que superestimaram ou subestimaram valores de percentual de plântulas normais em relação aos demais e foi obtida pela expressão:

$$h_j = \frac{\bar{y}_{j.} - \bar{y}_{..}}{\sqrt{\frac{\sum_{j=1}^b (\bar{y}_{j.} - \bar{y}_{..})^2}{\bar{n}_k (b-1)}}}, \quad \text{sendo: } \bar{n}_k = \frac{1}{(b-1)} \left(\sum_{j=1}^b n_j - \frac{\sum_{j=1}^b n_j^2}{\sum_{j=1}^b n_j} \right)$$

onde: h_j é o valor da estatística de Mandel para o j -ésimo laboratório; $\bar{y}_{j.}$ é o percentual médio de plântulas normais obtido pelo j -ésimo laboratório; $\bar{y}_{..}$ é a média geral do percentual de plântulas normais; b é o número de laboratórios; n_j é o número de repetições do j -ésimo laboratório; $\bar{n}_k = n_j$ para dados balanceados (mesmo número de repetições) e $\bar{n}_k \neq n_j$ para dados desbalanceados (número diferente de repetições). O limite crítico para todos os laboratórios para um mesmo lote, definido por:

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

onde: $t_{(\alpha, n)}$ é o quantil $100(1-\alpha)\%$ da distribuição t de “Student” com $n = b-2$ graus de liberdade para uma significância α ($\alpha = 0,05$ ou $\alpha = 0,01$); b é o número de laboratórios.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Medidas absolutas e relativas de repetitividade e reprodutibilidade

Os valores dos desvios padrão, variâncias e coeficientes de variação de repetitividade e de reprodutibilidade para os lotes de qualidades distintas de cada uma das 50 espécies florestais nativas se encontram na Tabela 1A (anexo). As dispersões de desvio padrão e variância se assemelharam tanto para repetitividade (Figuras 2a,b) como para reprodutibilidade (Figura 2c,d), embora ambos apresentassem escalas distintas. Dispersões semelhantes foram encontradas entre desvio de repetitividade e reprodutibilidade (Figura 2a,c) e entre as variâncias de ambos (Figura 2b,d).

Os desvios padrão de repetitividade e reprodutibilidade foram menores (abaixo de 4) para lotes com percentuais de plântulas normais acima de 80% (Figuras 2a,c). Contudo, menores variâncias de repetitividade e reprodutibilidade (abaixo de 40%) não foram exclusivas de lotes com alta qualidade (Figuras 2b,d). Em testes de germinação de *Vicia faba* L. menores desvios padrão de repetitividade também ocorreram para sementes com maior percentual de plântulas normais (DUCOURNAU et al., 2009).

No intervalo entre 40 e 60% de plântulas normais, tanto variâncias quanto desvios padrão oscilaram entre baixos e altos valores (Figura 2), não sendo possível estabelecer relação entre variabilidade e o percentual de plântulas normais. Entretanto, picos de variabilidade se concentraram no intervalo entre 40 e 60%. Segundo Kataoka (2009), a variância da proporção é uma função quadrática da própria proporção (p), sendo que quanto mais próximo de 50%, maior é a variação. Isso explica o fato da variância e, conseqüentemente, o desvio padrão superestimarem variações em lotes de qualidade intermediária. Em contrapartida, Powell (2009) encontrou, em geral, valores mais elevados de repetitividade e reprodutibilidade em lotes com menor germinação, provavelmente porque em sua pesquisa os lotes de menor vigor tinham no mínimo 80% de germinação.

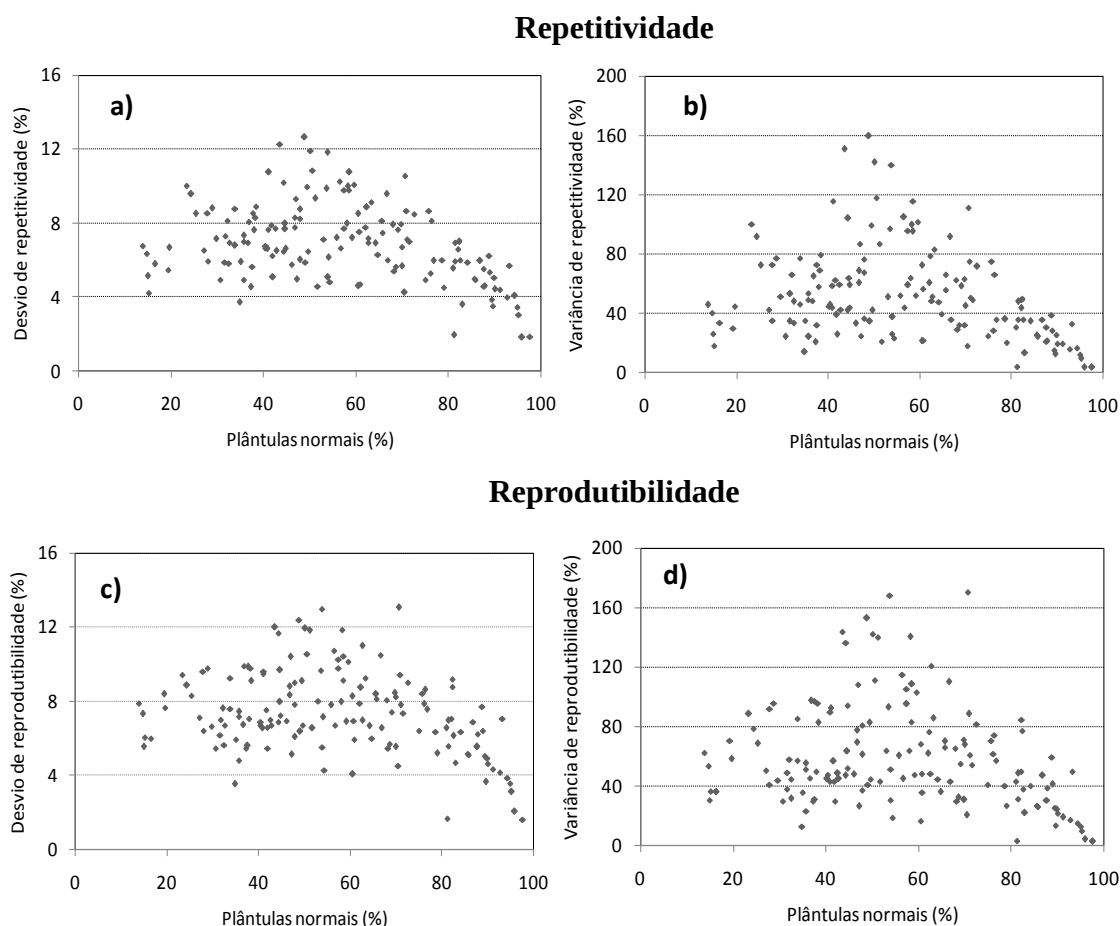


Figura 2. Gráfico de distribuição de variância e de desvio padrão de repetitividade e reprodutibilidade por percentual de plântulas normais.

Além de apresentarem dispersão semelhante, desvio padrão e variância de repetitividade e de reprodutibilidade também se assemelharam nos seus valores numéricos, com desvios de repetitividade entre 1,81 e 12,63% e de reprodutibilidade entre 1,59 e 13,05 (Tabela 1A). Entretanto, Matthews et al. (2011) em análise de germinação em sementes de milho (*Zea mays* L.), encontraram intervalos distintos de desvio padrão de repetitividade e reprodutibilidade, variando de 1,70 a 16,99 e de 2,75 a 31,56, respectivamente.

Diferenças entre repetitividade e reprodutibilidade em testes de germinação de sementes também foram encontradas para girassol (*Helianthus annuus* L.), em que desvios padrão de repetitividade variaram de 2,96 a 4,35 e de reprodutibilidade de 3,72 a 18,74 (DUCOURNAU et al., 2008); de 1,45 a 3,65 e de 1,61 a 6,1 para ervilha (*Pisum sativum*) (FIEDLER et al., 2008) de 2,39 a 3,91 e de 2,24 a 7,94 para *Vicia faba* L. (DUCOURNAU et al., 2009) e de 1,49 a 9,59 e de 2,31 a 15,00 de repetitividade e

reprodutibilidade, respectivamente, para nabo forrageiro (*Raphanus sativus* var. *Oleiferus*) (KATAOKA, 2009).

A semelhança entre repetitividade e reprodutibilidade do processo de validação de testes de germinação de sementes das espécies florestais foi devido a pequena contribuição da variância de laboratórios (s_L^2) para a variância de reprodutibilidade, indicando que a maior fonte de variação em testes de germinação de sementes de espécies florestais foi a variabilidade entre repetições. Essa variabilidade pode ser devida aos fatores não controlados presentes na execução do teste, mesmo a fatores genéticos e interação de ambos.

Desde 1930, quando o Comitê de Sementes florestais da ISTA iniciou o primeiro estudo com sementes de espécies florestais dos gêneros *Larix*, *Picea* e *Pinus*, foi constatada a presença de erros aleatórios e sistemáticos nas determinações laboratoriais (STEINER; KRUSE, 2006; STEINER; KRUSE, 2007). Segundo Kruse et al. (2009), em geral, são esperadas maiores variações em testes de germinação em função das variações experimentais não controladas. As análises de sementes de espécies florestais possuem grande variabilidade nas respostas obtidas (LORENTZ et al., 2006), provavelmente pela maior variabilidade genética intrínseca (WIELEWICKI et al., 2006). Segundo Jorgensen et al. (1992), a variação entre testes conduzidos no mesmo laboratório não poderia ser explicada exclusivamente pela variação casual.

Não foi possível estabelecer se a frequência com que a variância de repetitividade foi superior ou inferior a de reprodutibilidade porque esta relação foi muito dependente do percentual de plântulas normais. Na análise de germinação de sementes de milho (MATTHEWS et al., 2011), de nabo forrageiro (KATAOKA, 2009), de girassol (DUCOURNAU et al., 2008), de ervilha (FIEDLER et al., 2008) e de *Vicia faba* L. (DUCOURNAU et al., 2009) variâncias de reprodutibilidade, em geral, foram superiores as de repetitividade. Campos et al. (1999), em análise de solos, também encontraram reprodutibilidade de laboratórios superiores a de repetitividade. Contudo, essa relação não é uma regra, uma vez que a diferença entre repetições pode ser superior a diferença entre laboratórios, especialmente para espécies não melhoradas como as florestais.

Pelo método proposto pela ISO 5725, a variância de reprodutibilidade corresponde a variação total, sendo composta pela soma da variância de repetitividade mais a variabilidade observada entre diferentes laboratórios (POWELL, 2009). Num

primeiro momento, a expressão de reprodutibilidade ($s_R^2 = s_r^2 + s_L^2$) formada pela soma da variância de repetitividade (s_r^2) e da variância de laboratório (s_L^2) pode causar a impressão de que reprodutibilidade (s_R^2) é sempre maior que repetitividade. Porém, quando s_r^2 for maior que s_d^2 , a expressão $s_L^2 = \frac{s_d^2 - s_r^2}{n_k}$ torna-se negativa e a reprodutibilidade é menor que a repetitividade. Desta forma, no processo de validação de qualquer método, a variância gerada pela diferença entre repetições pode ser maior que a variância gerada pela diferença entre laboratório e vice-versa. Essa situação ocorreu para várias espécies florestais, como em *Acacia polyphylla* (Tabela 1A), onde percentuais de plântulas normais de 89,50% e 62,71% geraram variância de reprodutibilidade maiores que de repetitividade, porém com 42,63% de plântulas normais essa condição se inverteu, apresentando repetitividade (59,38) maior que reprodutibilidade (48,58). De maneira geral, variâncias de repetitividade superaram variâncias de reprodutibilidade para lotes com baixos percentuais de plântulas normais (Tabela 1A).

Para a maioria das espécies, as maiores variâncias e desvios padrão de repetitividade e reprodutibilidade não foram acompanhadas dos maiores coeficientes de variação (Tabela 1A). Isso ocorreu porque as medidas absolutas (variância e desvio padrão) não levaram em consideração as diferenças nos percentuais médios de plântulas normais e, por isso, não foram seguras para indicar variabilidade entre percentuais de plântulas normais obtidos dentro de um mesmo laboratório e entre laboratório.

A variância e o desvio padrão foram boas ferramentas para medir a variação de testes de germinação em lotes de sementes de alta qualidade, porém a eficiência de ambos foi reduzida à medida que os percentuais de plântulas normais reduziram. Além disso, os valores de desvio padrão de repetitividade e reprodutibilidade dependem da escala e da unidade de medição, sendo difícil comparar seus valores com dados de validação anteriores (POWELL, 2009).

O coeficiente de variação, uma medida adimensional e relativa ao valor médio (CARVALHO et al., 2002), apresentou tanto para repetitividade e reprodutibilidade padrões específicos de distribuição para lotes de diferentes qualidades. O coeficiente de variação foi capaz de detectar as elevadas variações que ocorreram em lotes de baixa qualidade e ponderar as reais variações nos percentuais de plântulas normais para lotes de qualidade intermediária (Figura 3).

Maiores coeficientes de variação de repetitividade e reprodutibilidade foram obtidos para lotes com percentuais de plântulas normais abaixo de 40% (Figura 3). A medida que a qualidade do lote diminuiu, a diferença entre repetições aumentou e, como consequência, as diferenças entre os percentuais médios de plântulas normais entre laboratórios também aumentaram. Maiores coeficientes de variação para lotes de qualidade intermediária ocorreram para *Copaifera langsdorffii*, *Dalbergia miscolobium*, *Mimosa caesalpiniiifolia* e *Mimosa scabrella*, tanto em repetitividade quanto em reprodutibilidade, e para *Erythrina speciosa* e *Qualea grandiflora* somente em reprodutibilidade (Tabela 1A).

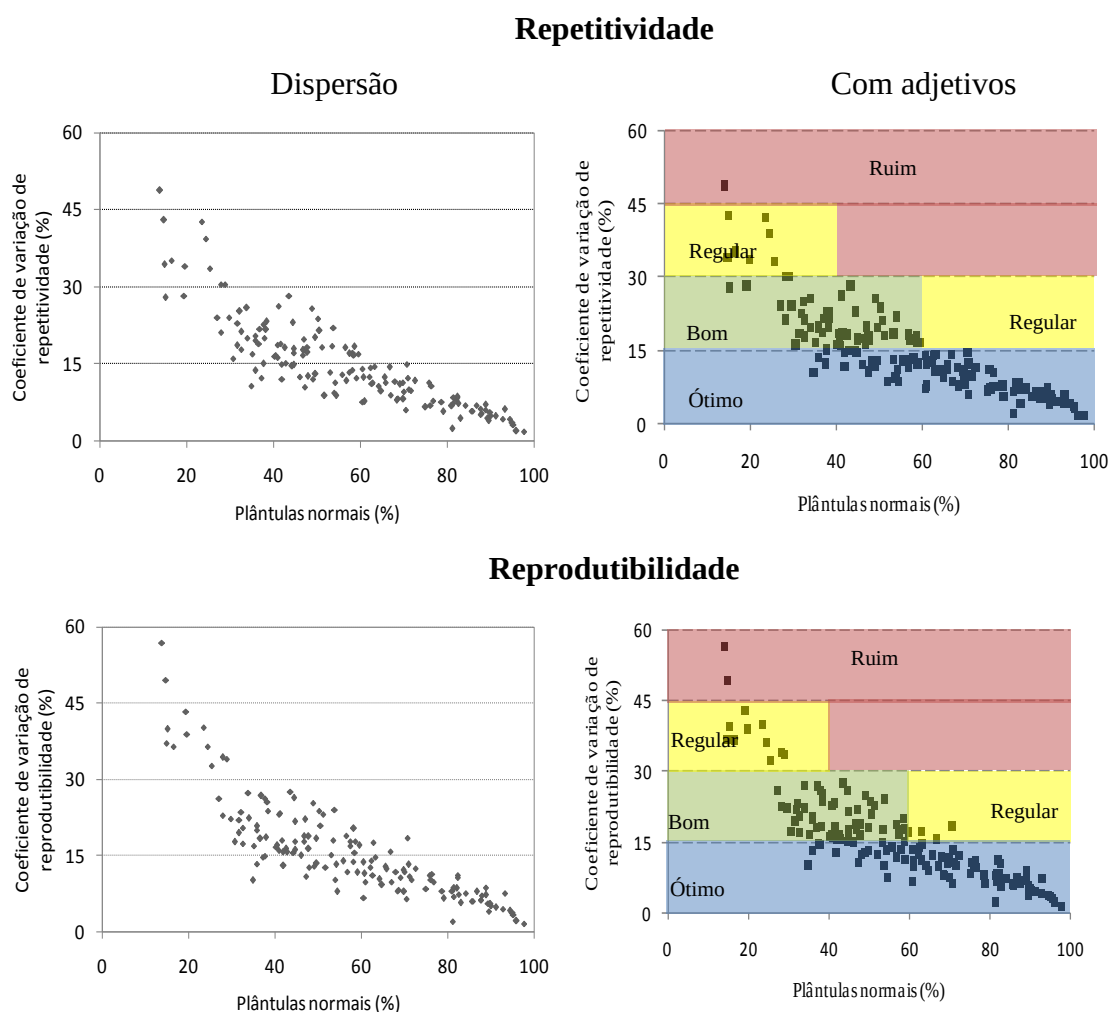


Figura 3. Dispersão do coeficiente de variação de repetitividade e de reprodutibilidade pelo percentual médio de plântulas normais e classificação dos resultados das análises segundo o intervalo em que se encontra o coeficiente e a qualidade do lote de sementes.

A maioria das espécies apresentou coeficientes de variação classificados como ótimos, $CV \leq 15\%$, para lotes de alta qualidade. Essa condição foi esperada por dois motivos, um matemático e outro tecnológico. O motivo matemático é porque, diferente

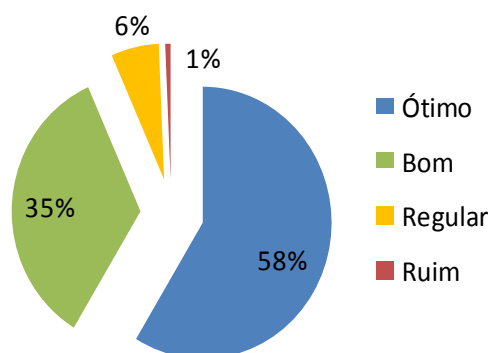
de outras características como altura, diâmetro, peso e outras, a porcentagem tem valor máximo de 100%, o que restringe a possibilidade de aumento de variabilidade. O motivo tecnológico é porque sementes com alta qualidade produzem altos percentuais de plântulas normais e baixos de anormais. Como as anormais são a principal fonte de dúvidas do analista, sua baixa frequência reduz a divergência e com isso a variabilidade. No entanto, houve exceções. A espécie *Citharexylum myrianthum* apresentou coeficientes de repetitividade e reprodutibilidade bons ($15\% \leq CV < 30\%$) para o lote com maior percentual de plântulas normais, que para esta espécie foi inferior a 60%. *Cariniana legalis*, *Enterolobium maximum* e *Ormosia arborea* também apresentaram coeficientes de reprodutibilidade entre 15% e 30% para os lotes de melhor qualidade, mas estes possuíam percentual de plântulas normais acima de 60% sendo, por isso, classificados como regulares.

Os coeficientes de repetitividade e reprodutibilidade e os seus adjetivos se mostraram eficientes na quantificação e qualificação da variabilidade entre e dentro de laboratórios ao apontarem que altas ($CV \geq 45\%$) ou baixas variabilidades ($CV \leq 15\%$) dependeram da qualidade do lote. Dos coeficientes de variação, 58% dos casos de repetitividade e 53% dos casos de reprodutibilidade foram classificados como ótimos e apenas 1%, para ambas as variabilidades, foram classificados como ruins (Figura 4).

Coeficientes de variação ótimos para os três lotes de qualidades distintas foram encontrados em apenas 10 espécies para repetitividade e destas, apenas *Hymenaea courbaril* não apresentou esse mesmo padrão também em reprodutibilidade. A maioria das espécies apresentou coeficientes de variação com classificação decrescente à medida que a qualidade do lote diminuiu, sendo que os lotes classificados como ruins apresentaram os mais baixos percentuais de plântulas normais (Figura 3; Tabela 1A).

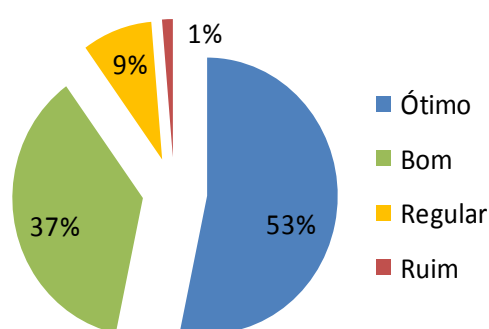
Em repetitividade, lotes com mais de 60% de plântulas normais não ultrapassaram 15% de CV_r . Em reprodutibilidade, os lotes com mais de 60% de plântulas normais de *Cariniana legalis*, *Enterolobium maximum* e *Ormosia arborea* apresentaram CV_R superiores a 15%, sendo esses classificados como regulares (Tabela 1A). Coeficientes de variação de reprodutibilidade ruins ocorreram para lotes de baixa qualidade de *Cybistax antisyphilitica*, com CV_R de 49,56%; e de *Jacaranda micrantha*, com CV_R de 56,90%. Esta última também apresentou coeficiente de variação de repetitividade ruim, acima de 45%, sendo CV_r de 48,73%.

Classificação do Coeficiente de Variação de Repetitividade



$CV_r < 15\%$ para $0 \leq G \leq 100\%$	Ótimo
$15\% \leq CV_r < 30\%$ para $G \leq 60\%$	Bom
$15\% \leq CV_r < 30\%$ para $G > 60\%$	Regular
$30\% \leq CV_r < 45\%$ para $G \leq 40\%$	Regular
$30\% \leq CV_r < 45\%$ para $G > 40\%$	Ruim
$CV_r \geq 45\%$ para $0 \leq G \leq 100\%$	Ruim

Classificação do Coeficiente de Variação de Reprodutibilidade



$CV_R < 15\%$ para $0 \leq G \leq 100\%$	Ótimo
$15\% \leq CV_R < 30\%$ para $G \leq 60\%$	Bom
$15\% \leq CV_R < 30\%$ para $G > 60\%$	Regular
$30\% \leq CV_R < 45\%$ para $G \leq 40\%$	Regular
$30\% \leq CV_R < 45\%$ para $G > 40\%$	Ruim
$CV_r \geq 45\%$ para $0 \leq G \leq 100\%$	Ruim

Figura 4. Percentuais de testes de germinação (1008 análises) em função da classificação de coeficiente de variação de repetitividade e de reprodutibilidade para diferentes percentuais de plântulas normais (G).

Se o processo de validação de métodos para testes de sementes fosse avaliado pelo desempenho dos três lotes de sementes, sendo o critério de aceitação a não existência de coeficientes de variação de repetitividade ou reprodutibilidade ruins, as espécies *Cybistax antisiphilitica* e *Jacaranda micrantha* não seriam validadas por causa da baixíssima qualidade de um dos lotes. Assim, é inviável avaliar o método baseado no desempenho de cada lote separadamente, uma vez que o baixo desempenho de apenas um lote poderia desclassificar o método quanto a sua repetitividade ou reprodutibilidade.

Em processos de validação de métodos químicos e biomédicos, repetitividade e reprodutibilidade são julgados baseados no desvio padrão relativo obtido a partir de análises fatoriais (PEIXOTO-SOBRINHO et al., 2008; LOURENÇO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2008; WORTMANN, 2004; FONSECA et al., 2004; RIBANI et al.

2004; PASCHOAL et al., 2008; GOUVEIA et al., 2009) e não pela análise por fator, segundo o método proposto pela ISO 5725-2 (1994). A análise realizada por fator é um dos modelos estatísticos recomendados para programas interlaboratoriais para estudar o efeito devido a variabilidade de laboratórios (CHUI et al., 2004). Entretanto, se a influência de operadores, equipamentos, métodos e amostras sobre os resultados obtidos pelos laboratórios devem ser estudadas, a análise de variância num esquema fatorial é recomendada (CHUI et al., 2004).

3.2 Estatísticas k e h de Mandel

Dos 1008 testes de germinação realizados pelos laboratórios para as 50 espécies florestais, apenas 44 (4,37%) apresentaram valores de k acima do crítico a 0,05 de significância, os chamados de discrepantes (Tabela 2; Tabela 2A). Por laboratório, os percentuais máximos de valores discrepantes de k atingiram apenas 11,1% e ocorreram para laboratórios que executaram, no máximo, 18 testes de germinação (seis espécies). Esses valores acima do crítico indicaram que os laboratórios apresentaram variabilidade do percentual de plântulas normais entre repetições além da esperada pela repetitividade. Em testes de condutividade com sementes de *Phaseolus vulgaris*, pouco mais de 7% dos valores de k foram significativos (acima do crítico) (POWELL, 2009). Em testes de condutividade em sementes de soja (*Glycine max*) em 35 avaliações ocorreram quatro valores acima do k crítico (POWELL, 2010). Em 57 análises em três lotes de sementes de *Brassica* spp, ocorreram cinco valores acima do k crítico em testes de tetrazólio e seis em testes de germinação (ARANGUREN et al., 2007). Em testes de germinação de sementes de *Raphanus sativus* var. *oleiferus*, independentemente do substrato utilizado, 5% das análises apresentaram valores de k acima do crítico a 0,05 de significância, mas nenhum acima a 0,01 (KATAOKA, 2009).

Como esperado, o número de testes de germinação com valores de k acima do crítico a 0,05 foi maior que a 0,01 (Tabelas 2A e 2), mesmo porque laboratórios com registro de discrepantes acima do crítico a 0,01 também são a 0,05; embora o contrário não seja verdadeiro. Os casos de k acima do crítico se distribuíram de forma aleatória e das 50 espécies, 30 apresentaram laboratórios com problemas de repetitividade (Tabela 2A). Contudo esse resultado não teve relação com a dormência das sementes uma vez que dessas, 13 apresentam sementes dormentes e 17 não são dormentes (Tabela 2A). Desta forma, o cunho pessoal do analista na execução dos métodos de superação de

dormência como picote e escarificação (Tabela 1) entre outros procedimentos específicos não foi a principal fonte de variabilidade entre repetições.

Tabela 2. Censo dos registros de valores de k acima dos críticos a 0,01 e a 0,05 de significância total e por laboratório das 50 espécies do processo de validação de métodos para teste de germinação de sementes.

Significância	Laboratórios																	Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
0,05	4	1	4	2	3	8	6	1	5	2	1	2	1	0	2	2	0	44
0,01	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	3
Análises	93	90	42	84	51	111	99	9	96	108	84	24	21	39	18	30	9	1008
Discrepantes (%)	4,3	1,1	9,5	2,4	5,9	7,2	6,1	11,1	5,2	1,9	1,2	8,3	4,8	0,0	11,1	6,7	0,0	4,4

Diferenças nos resultados entre repetições podem ter como causas variações não controladas, deficiência de equipamentos, incluindo variações dentro do germinador, deficiência do próprio método, erros ou inconsistência na distinção entre plântulas normais e anormais, fungos e bactérias, contagens ou registros imprecisos e não casualidade do teste (MILES, 1963). Cabe destacar que no processo de validação, fonte dos percentuais de plântulas normais dessa pesquisa, lotes e repetições foram casualizados para todas as espécies. De todos os fatores citado por Miles (1963), a presença de fungos nas sementes e nas plântulas das espécies florestais foi sem dúvida a maior fonte de variabilidade. Outro fator possível de aumento de variabilidade foi a dificuldade dos analistas em distinguir plântulas normais e anormais, mesmo com o detalhamento do protocolo (Figura 1A e 2A). Nakagawa (1999) também destaca a importância de analistas bem treinados para eliminar a subjetividade e tornar os resultados das avaliações compatíveis e comparáveis.

O número de testes de germinação executado por laboratório foi variável, entre nove e 111 testes de germinação (Tabela 2). A frequência de valores de k acima do crítico foi oscilante para laboratórios que realizaram poucas análises e mais estável para laboratórios com mais de 60 análises (Figura 5). Neste contexto, destacam-se os laboratórios 15 e 17, ambos com menos de 20 análises, o primeiro apresentou 11,1% de valores de k acima do crítico e o segundo não teve registro de valores acima do crítico (Figura 5). Em contrapartida, o laboratório 14, sem registro de valores acima do crítico, foi mais estável ou repetitivo que o laboratório 3 com quase o mesmo número de determinação (42), porém com 9,5% de análises com problemas de repetitividade.

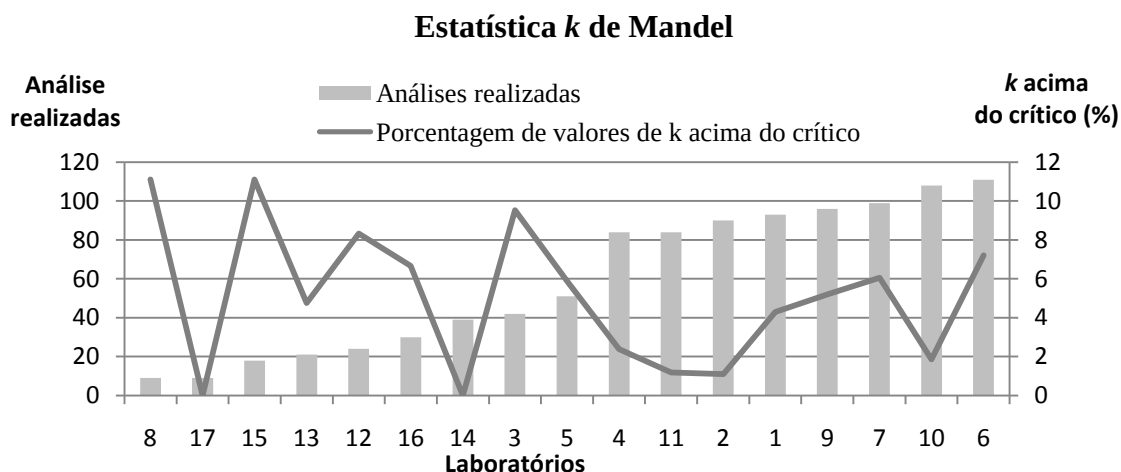


Figura 5. Frequência percentual de valores de k acima do crítico em função do número de testes de germinação executados por laboratório.

Valores de h acima do crítico indicaram resultados de teste de germinação discrepantes entre laboratórios, sendo portanto, não reprodutivos. O percentual de análises de plântulas normais com h acima do crítico a 0,05 de significância foi de 4,27% (43 análises das 1008 realizadas), sendo que destas menos de 1% foi significativa a 0,01 (Tabela 3 e Tabela 3A). Assim como em k , a quantidade máxima de análises discrepantes por laboratório foi de 11,1% e das 50 espécies, 30 apresentaram laboratórios com análises sem reprodutibilidade, porém os laboratórios com valores de k acima do crítico não foram necessariamente os mesmos laboratórios apontados na estatística h e nem as espécies foram exatamente as mesmas.

Em testes de condutividade com sementes de *Phaseolus vulgaris*, em 90 avaliações houve apenas um valor de h acima do crítico, sendo que neste estudo maiores problemas ocorreram em repetitividade (estatística k) (POWELL, 2009). Em testes de germinação de sementes de *Raphanus sativus* var. *oleiferus* não houve valores de h acima do crítico (KATAOKA, 2009). Em testes de condutividade em sementes de soja (*Glycine max*) em 35 avaliações ocorreram apenas um valor acima do h crítico (POWELL, 2010). Em 57 análises em três lotes de sementes de *Brassica* spp, ocorreram quatro valores acima do h crítico em testes de tetrazólio e três em testes de germinação (ARANGUREN et al., 2007).

Valores significativos a 0,01 também são a 0,05. Assim, a quantidade de análises acima do h crítico a 0,05 de significância foi superior ao número de análises acima do h crítico a 0,01 de significância (Tabela 3). A ocorrência de análises fora do intervalo de aceitação se distribuiu de forma aleatória e independente do percentual de plântulas

normais. Espécies com sementes dormentes representaram 47% dos casos de h acima do crítico e espécies com sementes não dormentes 53% (Tabela 3A) e sendo assim, não foi possível estabelecer relação entre problemas e reprodutibilidade e a dormência.

Mais de 60% dos resultados sem reprodutibilidade foram subestimados (valores negativos). Neste contexto, destacam-se os laboratórios 2, 5, 6, 7, 11, 14 e 17, que quando apresentaram valores de h acima do crítico, estes foram valores negativos (Tabela 3). Isso significa que houve tendência dos laboratórios em subestimar os percentuais de plântulas normais em relação a média dos percentuais dos demais laboratórios.

Tabela 3. Censo dos registros de valores de h acima dos críticos a 0,01 e a 0,05 de significância total e por laboratório das 50 espécies do processo de validação de métodos para teste de germinação de sementes.

Significância	Laboratórios																	Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
0,05	3	3	2	6	5	3	2	0	5	5	2	0	2	1	2	1	1	43
0,01	0	0	1	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	1	10
Superestimado (+)	1	0	1	5	0	0	0	0	4	2	0	0	1	0	1	1	0	16
Subestimado (-)	2	3	1	1	5	3	2	0	1	3	2	0	1	1	1	0	1	27
Análises	93	90	42	84	51	111	99	9	96	108	84	24	21	39	18	30	9	1008
Discrepantes (%)	3,2	3,3	4,8	7,1	9,8	2,7	2,0	0,0	5,2	4,6	2,4	0,0	9,5	2,6	11,1	3,3	11,1	4,3

A causa mais provável dos valores subestimados foi a contaminação fúngica. Ducournau et al. (2008), em testes de germinação com sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.), verificaram que valores de repetitividade e reprodutibilidade aumentam com a contaminação de fitopatógenos. Tendência semelhante foi observada em testes de condutividade com sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) (POWELL, 2009) e soja (*Glycine max*) (POWELL, 2010), em testes de vigor em *Brassica* (POWELL, 2009) e em testes de germinação com sementes de *Brassica* spp. (ARANGUREN et al., 2007) ervilha (*Pisum sativum*) (FIEDLER et al., 2008) e de nabo forrageiro (*Raphanus sativus* var. *oleiferus*) (KATAOKA, 2009) que apresentaram laboratórios com tendência de subestimar os valores independente da qualidade do lote de sementes analisado.

Problemas com o próprio método podem ser a causa de valores discrepantes de reprodutibilidade como temperatura (ANDRADE; PEREIRA, 1994), posicionamento das sementes no rolo de papel (ANDRADE; PEREIRA, 1994) e padronização do volume de água (GENTIL; TORRES, 2001).

Os laboratórios executaram entre 9 e 111 análises e assim como na estatística k , a frequência de valores de h acima do crítico foi mais oscilante em laboratórios que realizaram menos análises (Figura 6). Exemplos estão nos laboratórios 12 e 13 que realizaram análises em oito e sete espécies respectivamente, sendo que o primeiro não registrou valores discrepantes, o segundo porém, menos estável, errou em 9,5% de suas análises. Entretanto, os laboratórios que realizaram análises em mais de 28 espécies (84 análises) não erraram mais que 7,1%, sendo em geral mais estáveis.

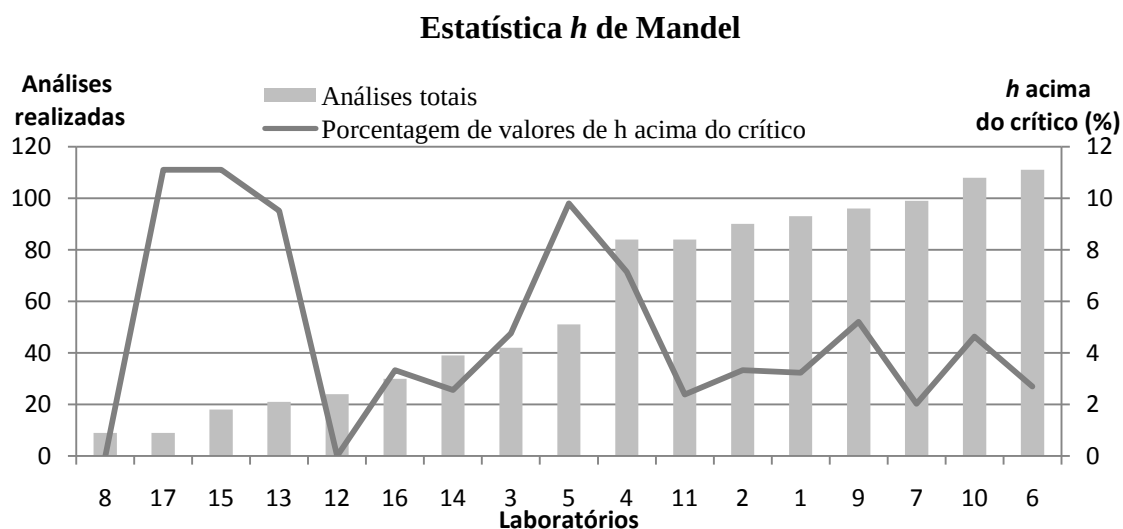


Figura 6. Frequência percentual de valores de h acima do crítico e quantidade de testes de germinação realizados por laboratório.

4 CONCLUSÕES

A variância e o desvio padrão são medidas estatísticas indicadas para medir a variabilidade de testes de germinação com sementes de espécies florestais para lotes de alta qualidade, porém é menos eficaz à medida que a qualidade do lote declina;

Coeficientes de variação de repetitividade e reprodutibilidade são capazes de detectar as elevadas variações que ocorrem em lotes de sementes de espécies florestais de baixa qualidade e ponderar as variações nos lotes de qualidade intermediária. Coeficientes ótimos representam 58% em repetitividade e 53% em reprodutibilidade. Coeficientes de variação de repetitividade e reprodutibilidade ruins ocorrem em apenas 1% das análises;

As estatísticas k e h de Mandel auxiliam processo de validação de métodos para teste de germinação de sementes de espécies florestais apenas na identificação de laboratórios que não foram repetitivos ou reprodutivos, não permitindo inferências sobre a qualidade do método testado;

Embora o cunho pessoal do analista na execução do método para superação de dormência das sementes possa ser fonte de variabilidade, falta de reprodutibilidade não é uma particularidade das sementes dormentes. Provavelmente, a grande incidência de fungos seja a principal causa dos problemas de repetitividade e de reprodutibilidade encontrados com as espécies florestais.

5 REFERÊNCIAS

- ALVES, E.U.; OLIVEIRA, A.P.; BRUNO, R.L.A.; SADER, R.; ALVE, A.U. Rendimento e qualidade fisiológica de sementes de coentro cultivado com adubação orgânica e mineral. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.27, n.1, p.132-137, 2005.
- ANDRADE, A.C.S.; LOURCIRIO, M.B., SOUZA, A.D.O.; RAMOS, F.N.; CRUZ, A.P.M. Reavaliação do efeito do substrato e da temperatura na germinação de sementes de palmitero. **Revista Árvore**, Viçosa, v.23, n.3, p.279-288, 1999.
- 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, v.16, n.1, p.34-40, 1994.
- ARANGUREN, B.; DON, R.; DUFFY, G.; GRÉGOIRE, S.; MARTINELLI, A. **Validation of tetrazolium method for *Brassica* spp.** ISTA Method Validation Reports. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.4, p.53-62, 2007.
- ARAÚJO NETO, J.C.; AGUIAR, I.B.; FERREIRA, V.M. Efeito da temperatura e da luz na germinação de sementes de *Acacia polyphylla* DC. **Revista Brasileira Botânica**, São Paulo, v.26, n.2, p.249-256, 2003.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST INTERNATIONAL (AOAC). **Official methods of analysis**. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemist International, n.16, 2000, 1298p.
- AZEREDO, A.; ALBANO, F.; SOUZA, T. Utilização dos desvios de repetitividade e reprodutibilidade na avaliação de desempenho de analistas de ensaios poliméricos. In: ENQUALAB - CONGRESSO DA QUALIDADE EM METROLOGIA, 2008, São Paulo. **Anais...** São Paulo: REMESP- Rede Metrológica do Estado de São Paulo , 2008. p.8.
- BRASIL. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. 365p.
- BRASIL. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções normativas nº26 de 10 de setembro de 2012**. Brasília: Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2012.
- BRASIL. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções normativas nº35 de 14 de julho de 2011**. Brasília: Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2011.
- BRASIL. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções normativas nº44 de 23 de dezembro de 2010**. Brasília: Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2010.

- 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, M.P.; SORATTO, R.P.; FREDDI, O.S. Variabilidade espacial de atributos físicos em um latossolo vermelho distrófico sob preparo convencional em Selvíria, estado de Mato Grosso do Sul. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.24, n.5, p.1353-1361, 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.
- DUCOURNAU, S.; GARREAU, P.; LÉCHAPPÉ, J. Effect of temperature and growing media on sunflower germination. **Seed Testing International**, Basserdorf, n.135, p.34-36, 2008.
- DUCOURNAU, S.; GARREAU, P.; MALLET, L.; LÉCHAPPÉ, J. Use of organic growing media as primary substrate for the germination of *Vicia faba* L. seeds. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.58-63, 2009.
- FIEDLER, K.A.; GUTORMSON, T.J.; BRIX-DAVIS, K.A.; CARLSON, L.N. Evaluation of crepe cellulose paper (Versa-Pak®) covered with sand as an ISTA medium. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.9-32, 2008.
- 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, v.23, n.2, p.113-116, 2001.
- GOUVEIA E.R.; NASCIMENTO, R.T.; SOUTO-MAIOR, A.M.; ROCHA, G.J.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.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **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.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). **Method validation for seed testing**, Bassersdorf: International Seed Testing Association, 2007. 70p.

JORGENSEN, J.; KRISTENSEN, K.; DEPRINS, H.; STEINER, A.M. Studies on variation between results of repeated germination tests made in the same laboratory. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.20, n.2, p.281-287, 1992.

KATAOKA, V.Y. **Testes estatísticos na validação de métodos e ensaios de proficiência interlaboriais em sementes de nabo forrageiro**. 2009. 244f. Tese (Doutorado em Estatística e experimentação agropecuária) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

KOWALEWSKI, M.J. **Quality and Statistics: total quality management**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1994. 179p.

KRUSE M.; PIETILA, L.; DON, R.; HAMPTON, J. Validation of a cargo sampler and sampling stick without compartments for seed sampling in small seeded species. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.22-39, 2009.

LORENTZ, L.H.; FORTES, F.O.; LÚCIO, A.D. Análise de trilha entre as variáveis das análises de sementes de espécies florestais exóticas do rio grande do sul. **Revista Árvore**, Viçosa, v.30, n.4, p.567-574, 2006.

LOURENÇO, F.R.; SILVA, A.C.D.; YAMAMOTO, R.N.; PINTO, T.J.A. Validação de método de doseamento para aciclovir e aplicação em estudo de equivalência farmacêutica de creme contendo aciclovir. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v.30, n.3, p.273-276, 2009.

MANDEL, J. The validation of measurement through interlaboratory studies. **Chemometrics and intelligent laboratory systems**. Gaithersburg: National Institute of Standards and Technology, n.11, p.109-119, 1991.

MATTHEWS, S.; WAGNER, M.H.; RATZENBOECK, A.; KHAJEH-HOSSEINI, M.; CASARINI, E.; EL-KHADEM, R.; EL YAKHLIFI, M.; POWELL, A.A. Evaluation of early counts of radicle emergence during germination as a repeatable and reproducible vigour test for maize. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.29-46, 2011.

MILES, S.R. Handbook of tolerances and of measures of precision for seed testing. **Proceedings of the International Seed Testing Association**, Zürich, v.28, n.3, p.525-686, 1963.

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. p.1-21, 1999.

OLIVEIRA, L.S.; SOUSA, S.J.G.; SILVA, R.V.; UCHOA, P.I.P.; CORREIA, P.P.B. PELLEGRINOTTI, I.L.; BATISTA, G.R. Validação e reprodutibilidade de plataforma de salto com laser para altura do salto em voleibolistas. **Conexões: educação, esporte, lazer**, Campinas, v.6, ed. especial, p.111-121, 2008.

PASCHOAL, J.A.R., RATH, S., AIROLDI, F.P.S., REYES, F.G.R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**, São Paulo, v.31, n.5, p.1190-1198, 2008.

PEDOTT, A.H. **Análise de dados funcionais aplicada ao estudo de repetitividade e reprodutibilidade:** ANOVA das distâncias. 2010. 131f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de produção) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

PEIXOTO-SOBRINHO, T.J.S.; SILVA, C.H.T.P.; NASCIMENTO, J.E.; MONTERIO, 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, n.4, p.683-689, 2008.

POWELL, A. A. Evaluation of the controlled deterioration test as a repeatable and reproducible vigour test for *Brassica* species. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.92-123. 2009.

POWELL, A. A. Proposal for the addition of *Glycine max* as a species to which the conductivity test for seed vigour can be applied. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.19-24, 2010.

POWELL, A. A. Proposal for the addition of *Phaseolus vulgaris* as a species to which the conductivity test for seed vigour can be applied. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.82-91, 2009.

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.

ROBERTS, S.J.; KOENRAADT, H. Revised method for detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in *Brassica* seed. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.1, p.1-9, 2003.

STEINER, A.M.; KRUSE, M. Centennial: The 1st International Conference for Seed Testing 1906 in Hanburg, Germany. **Seed Testing International**, Zurich, n.132, p.19-21, 2006.

STEINER, A.M.; KRUSE, M. Nobbe's "Statute Concerning the Testing of Agricultural Seeds" of August 1869. **Seed Testing International**, Zurich, n.134, p.11-13, 2007.

STEINER, A.M.; KRUSE, M.; LEIST, N. ISTA method validation 2007: A historical retrospect. **Seed Testing International**, Zurich, n.136, p.32-35, 2008.

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, v.28, n.3, p.191-197, 2006.

WORTMANN, A.C. **Quantificação de ferro em tecido hepático através de espectroscopia por absorção atômica:** Validação do método com fígado bovino e avaliação comparativa entre tecido fresco e tecido conservado em parafina. 2004. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência em gastroenterologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

CAPÍTULO 3

ESTUDO DE R&R EM PROCESSOS DE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS PARA TESTE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS

RESUMO: Restrito a espécies cultivadas, processos de validação de métodos para testes de germinação de sementes se estenderam à espécies florestais brasileiras e precisam ser avaliados. Estimar valores absolutos e relativos do estudo de R&R para característica plântulas normais geradas pelos processos de validação de 50 espécies florestais brasileiras foram objetivos desse artigo, além de estabelecer valores de referência para a avaliação dos processos de validação. Lotes de sementes com qualidade distinta foram enviados para laboratórios que executaram testes de germinação, conforme método e procedimentos propostos. Com base no modelo fatorial de análise de variância, repetitividade, reprodutibilidade e R&R para a característica plântulas normais por espécie foram obtidas e estimadas em variância, porcentagem de contribuição e coeficiente de variação. Elevadas variabilidades ocorrem igualmente para sementes com e sem dormência tegumentar, sendo a variabilidade genética, e não os métodos de superação de dormência, a maior causa de variações em testes envolvendo sementes de espécies florestais. As variâncias do estudo de R&R são pouco eficazes para medir a variabilidade de testes de germinação de sementes a medida que a qualidade dos lotes diminuem. O percentual de contribuição é influenciado pela variabilidade entre os lotes de sementes, e assim como as variâncias, não ponderam as reais variações que ocorrem em testes envolvendo sementes de qualidade intermediária. Coeficientes de variação de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R são capazes de detectar as elevadas variações que ocorrem em testes de germinação de sementes de baixa qualidade e, diferentemente do percentual de contribuição, não são influenciados pela variabilidade entre os lotes de sementes. O coeficiente de R&R é a estatística recomendada para avaliar o desempenho de processos de validação de métodos para análises de sementes, sendo 48% desses classificados como ótimos. De maneira geral quanto melhor a qualidade dos lotes de sementes melhor é o desempenho das análises, e provavelmente a contaminação fúngica é a causa de maior variabilidade em testes envolvendo lotes de sementes de baixa qualidade.

Palavras-chave: coeficiente de variação, plântulas normais, porcentagem de contribuição, repetitividade, reprodutibilidade.

ABSTRACT: Restricted to cultivated species, validation processes for methods of testing seed germination were extended to the Brazilian forest species and need to be evaluated. Estimating absolute and relative values of the R&R study for normal seedlings generated by validation processes of 50 Brazilian forest species were the objectives of this article, besides establishing benchmarks for the evaluation of the validation processes. Lots of seeds with distinct quality were sent to different laboratories that performed germination tests according to the methods and procedures proposed. Based on the factorial analysis of variance model, values for repeatability, reproducibility and R&R for characteristic normal seedlings per species were obtained and estimated by variance, contribution percentage and coefficient of variation. High variability also occurs for seeds with and without cutaneous numbness, with genetic variability, not the methods of scarification, the major cause of variations in tests involving forest tree seeds. The variances of the R&R study are little effective for measuring the variability of seed germination tests as the quality of the lot decreases. The contribution percentage is influenced by the variability among seed lots, as well as the variances and do not ponder the actual changes that occur in tests involving seeds of intermediate quality. Coefficients of variation of repeatability, reproducibility and R&R are able to detect the high variations occurring in testing germination of poor quality seeds, and unlike the contribution percentage, are not influenced by variability among seed lots. The R&R coefficient is the recommended statistic to evaluate the performance of validation method processes for seed analysis, with 48% of these rated as excellent. In general the better the quality of the seed lots, the better the performance of the analysis, and probably fungal contamination is the cause of greater variability in tests involving lots of low quality seeds.

Keywords: coefficients of variation, contribution percentage, normal seedlings, repeatability and reproducibility.

1 INTRODUÇÃO

Com a demanda crescente de sementes de alta qualidade para o estabelecimento de uma agricultura mais produtiva e sustentável, cresce também o monitoramento de cada fase do processo produtivo da indústria de sementes (ALVES et al., 2005). Por isso a Associação Internacional para Análise de Sementes recomenda que testes de qualidade de sementes, incluindo testes de germinação, devem ser realizados por métodos validados (ISTA, 2007).

Restrito as espécies cultivadas, métodos validados para testes de germinação se estenderam às espécies florestais e, neste contexto, desde 2010, foram validados métodos para teste de germinação de 50 espécies florestais brasileiras e se encontram oficializados pela Instrução Normativa nº 44, de 23 de dezembro de 2010 (BRASIL, 2010), Instrução Normativa nº 35, de 14 de julho de 2011 (BRASIL, 2011) e Instrução Normativa nº 26, de 10 de setembro de 2012 (BRASIL, 2012).

O processo de validação é a confirmação de que o método em estudo pode medir o que é requerido com precisão adequada e está implícito à necessidade de avaliar repetitividade e a reprodutibilidade (ISTA, 2007). Repetitividade e reprodutibilidade são essenciais para averiguar se os métodos a serem validados poderão ser repetidos pelos operadores laboratoriais e reproduzidos em outros laboratórios sem que haja grande variabilidade (RENNIE; TOMLIN, 1984).

Em análises laboratoriais, os modelos de análise de variância têm sido utilizados para verificar a variabilidade associada a sistemas de medição e auxiliar a validação de métodos (FILIPE, 2007). Dentre as ferramentas utilizadas está o modelo com um fator ou com múltiplos fatores, ou fatoriais, que decompõe as variâncias em repetitividade e reprodutibilidade (CHUI et al., 2004).

Em processo de validação de métodos para testes de germinação de sementes a ISTA (2007) que segue as normas da ISO5725-2 (1994), quantifica a repetitividade e a reprodutibilidade por lote ou por amostra correspondendo a um modelo de análise de variância de fator único, sendo este fator o laboratório. Essa análise é recomendada em programas interlaboratoriais para estudar o efeito devido à variabilidade de laboratórios (CHUI et al., 2004). Contudo, na validação de métodos para análise de germinação de sementes, a exigência do envio aos laboratórios de lotes com qualidades distintas caracteriza o modelo de análise de variância com dois fatores.

Estimativas de repetitividade e reprodutibilidade pela análise de variância com dois fatores são utilizados em processo de validação de métodos bioanalíticos (PEIXOTO-SOBRINHO et al., 2008; LOURENÇO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2008; WORTMANN, 2004) e analíticos (FONSECA et al., 2004; RIBANI et al. 2004; PASCHOAL et al., 2008; GOUVEIA et al., 2009) e seguem as orientações descritas na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2012).

Segundo a ANVISA (2012), a precisão do método pode ser expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação) de uma série de medidas. Em detrimento das demais estimativas, o desvio padrão relativo ou o coeficiente de variação são medidas adimensionais e têm por vantagem caracterizar a dispersão dos dados em relação ao valor médio. O valor máximo aceitável deve ser definido de acordo com a metodologia empregada, a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 5% em análises químicas (ANVISA, 2012).

A análise de variância com dois fatores também é utilizado em controle estatístico de processos sendo proposta por Hicks (1973). A combinação de dois fatores permite calcular a variabilidade de um sistema e dá origem ao estudo de R&R (PEDOTT, 2010). A avaliação de R&R detecta a variação entre laboratórios (reprodutibilidade) e entre repetições (repetitividade) sobre a variação de uma série de medições (AIAG, 2002). Neste caso, reprodutibilidade detecta apenas os efeitos de laboratórios (REGO, 1995), não levando em consideração a variabilidade entre repetições, como no método proposto pela ISO5725-2 (ISO, 1994).

No estudo de R&R, o critério para verificar se a variabilidade do sistema de medição é satisfatória ou não se baseia na porcentagem de contribuição de R&R (AIAG, 2002). Porcentagens de contribuição de R&R são consideradas aceitáveis se entre 0 e 10%; podem ser consideradas aceitáveis dependendo da importância de sua aplicação se entre 10% e 30%, e são consideradas não aceitáveis se maiores que 30% (REGO, 1995). Entretanto, não existem publicações sobre a porcentagem ideal de contribuição das variações de repetitividade e reprodutibilidade no estudo de germinação de sementes de espécies florestais (NOMELINI, 2012).

Provavelmente, coeficientes de variação de reprodutibilidade inferiores a 5% (ANVISA, 2012) e porcentagens de contribuição de R&R inferiores a 30% (REGO, 1995) são valores de referencia baixos para processo de validação de métodos para testes de germinação, pois diferente da validação de processos produtivos não

biológicos, sementes são uma situação particular porque o processo depende da resposta fisiológica, ecológica e genética das sementes.

Portanto, além de se conhecer a variabilidade de testes de germinação expressa em porcentagem de contribuição e em coeficientes de variação, há também a necessidade de se estabelecer padrões para avaliar o processo de validação e o método em estudo. Assim, estimar as variâncias, as porcentagens de contribuição e coeficientes de variação de repetitividade, de reprodutibilidade e do estudo de R&R para característica plântulas normais geradas pelo processo de validação de 50 espécies florestais foram objetivos desse trabalho, além de estabelecer valores de referência para a avaliação de processos de validação de métodos para testes de germinação de sementes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a análise de repetitividade e reprodutibilidade foram utilizados os resultados da validação de métodos para teste de germinação de sementes de 50 espécies florestais nativas oficializadas pelas Instruções Normativas nº 44 de 23 de dezembro de 2010 (Brasil, 2010), nº 35 de 14 de julho de 2011 (Brasil, 2011), e nº 26 de 10 de setembro de 2012 (Brasil, 2012). Nesse processo de validação, no mínimo três lotes de sementes de qualidades distintas foram encaminhados para no mínimo seis laboratórios credenciados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento junto com protocolos com o detalhamento do método para execução de teste de germinação (Figura 1A), incluindo normalidades e anormalidades de plântulas (Figura 2A), fichas de análise (Figura 3A) e casualização (Figura 4A).

Os resultados de plântulas normais dos testes de germinação para as 50 espécies florestais foram testados indicando atendimento das pressuposições de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias por Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, do modelo de análise de variância, algumas com transformação do tipo angular. As análises estatísticas para a característica plântulas normais seguiram a notação de um modelo inteiramente casualizado em esquema fatorial lote vs laboratório (equação 1) com quatro repetições definido por:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + \varepsilon_{ijk} \text{ para } i = 1, 2, 3, \dots, a; j = 1, 2, 3, \dots, b; k = 1, 2, 3, \dots, n_{ij} \quad (1)$$

onde y_{ijk} é a porcentagem de plântulas normais obtida do i -ésimo lote, j -ésimo laboratório na k -ésima repetição; μ é o percentual médio de plântulas normais; α_i é o efeito do i -ésimo lote; β_j é o efeito do j -ésimo laboratório; γ_{ij} é o efeito da interação do j -ésimo laboratório no i -ésimo lote; ε_{ijk} é o resíduo independente e normalmente distribuído; a é número de lotes, b é o número de laboratórios e n_{ij} é o número de repetições do j -ésimo laboratório.

A diferença significativa entre lotes pelo teste de F a 0,01 de significância e efeito de laboratórios e interação lote vs laboratório não significativos, levou a validação do método (Tabela 1). Independentemente se no teste F os dados foram transformados, a análise de variância para os cálculos de R&R foram realizados com os dados originais (porcentagem de plântulas normais).

Tabela 1. Métodos validados para teste de germinação de sementes de 50 espécies florestais brasileiras.

Espécie Botânica	Substrato	Temperatura em °C	Contagem em dias			Instruções adicionais incluindo recomendações para superar dormência [#]
			1	2	Final	
<i>Acacia polyphylla</i>	RP	25	7	-	14	113
<i>Albizia hassleri</i> *	RP	25	7	-	14	115, 118 e 115
<i>Anadenanthera colubrina</i>	RP	25	4	-	10	69, 113
<i>Anadenanthera macrocarpa</i>	RP	25	4	-	10	113 e 69
<i>Apuleia leiocarpa</i> *	RP	25	7	-	10	121, 118 e 115
<i>Astronium fraxinifolium</i>	RP	25	7	-	10	113
<i>Cariniana estrellensis</i>	RP	25	14	-	28	119, 113 e 115
<i>Cariniana legalis</i>	RP	25	14	-	28	125, 113 e 115
<i>Cassia leptophylla</i> *	RP	25	10	-	14	113, 120, 131, 120 e 51
<i>Cedrela fissilis</i>	RP	25	14	-	21	115
<i>Cedrela odorata</i>	RP	25	14	21	28	115
<i>Ceiba speciosa</i>	RP	25	7	-	10	115 e TS
<i>Citharexylum myrianthum</i>	RP	25	21	-	35	113, 121
<i>Copaifera langsdorffii</i>	RP	25	14	21	28	120, 124 e 120
<i>Cordia americana</i>	AS	25	10	-	17	113
<i>Cybistax antisiphilitica</i>	RP	25	14	-	35	113
<i>Dalbergia miscolobium</i>	RP	25	7	-	10	113 e 115
<i>Dalbergia nigra</i>	RP	25	10	-	14	113 e 120
<i>Enterolobium contortisiliquum</i> *	RP	25	7	-	14	116 e 113
<i>Enterolobium maximum</i>	RP	25	7	-	14	121, 124, 132 e 126
<i>Erythrina speciosa</i> *	RP	25	7	-	14	122, 129 e 120
<i>Gallesia integrifolia</i>	RP	25	10	-	17	69, 130 e 113
<i>Guazuma ulmifolia</i> *	SP	25	7	14	21	117, 119 e 113

Continuação...

Espécie Botânica	Substrato	Temperatura em °C	Contagem em dias			Instruções adicionais incluindo recomendações para superar dormência [#]
			1	2	Final	
<i>Handroanthus aureus</i>	RP	25	10	15	21	113
<i>Handroanthus chrysotrichus</i>	RP	25	7	-	14	113
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	RP	25	14	-	21	120
<i>Handroanthus roseo-albus</i>	RP	25	10	-	17	113
<i>Hymenaea courbaril</i> *	RP	25	21	-	28	133, 115, 116, 115, 89 e 113
<i>Hymenaea stigonocarpa</i> *	RP	25	21	-	28	133, 115, 116, 115, 89 e 113
<i>Jacaranda cuspidifolia</i>	RP	25	21	-	28	113
<i>Jacaranda micrantha</i>	RP	25	21	28	42	113 e 69
<i>Lafoensia pacari</i>	RP	25	14	-	21	113
<i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	RP	25	5	-	10	113, 118 e 113
<i>Mimosa scabrella</i> *	RP	25	5	-	10	120, 128, 51 e 120
<i>Ormosia arborea</i> *	RP	25	21	-	28	120, 123, 120 e 51
<i>Parapiptadenia rigida</i>	RP	25	7	-	14	113
<i>Parkia pendula</i> *	RP	30	7	-	14	120, 119, 118 e 120
<i>Peltogyne confertiflora</i>	RP	25	21	-	28	120 e 51
<i>Peltophorum dubium</i> *	RP	25	7	-	14	118 e 113
<i>Platymenia reticulata</i> *	RP	25	10	-	16	122, 118 e 115
<i>Pseudobombax tomentosum</i>	RP	25	10	-	17	114 e TS
<i>Pterogyne nitens</i> *	RP	25	7	-	14	115, 118 e 113
<i>Qualea grandiflora</i>	RP	25	28	-	35	113
<i>Schinus terebinthifolius</i>	SP	25	10	-	18	113
<i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> *	RP	25	7	-	10	115, 116, 115, 51, 119 e 113
<i>Senna macranthera</i> *	RP	25	7	-	14	120, 118 e 120

Continuação...

Espécie Botânica	Substrato	Temperatura em °C	Contagem em dias			Instruções adicionais incluindo recomendações para superar dormência [#]
			1	2	Final	
<i>Senna multijuga</i> *	RP	25	4	-	7	120, 127 e 120
<i>Stryphnodendron barbadetimam</i> *	RP	25	10	-	14	132, 131 e 132
<i>Stryphnodendron polyphyllum</i> *	RP	25	10	-	14	120, 131 e 120
<i>Zeyheria tuberculosa</i>	RP	25	14	-	21	120

* Espécies com sementes dormentes. [#] As instruções adicionais para os testes de germinação de sementes e as recomendações para superar dormência, encontram-se nas Regras Brasileiras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009) e nas Instruções Normativas nº 44 de 23 de dezembro de 2010 (BRASIL, 2010), nº 35 de 14 de julho de 2011 (BRASIL, 2011) e nº 26 de 10 de setembro de 2012 (BRASIL, 2012).

Com base no modelo fatorial de análise de variância (equação 1) as estimativas de repetitividade e reprodutibilidade da característica plântulas normais por espécie foram obtidas pelo desdobramento da esperança do quadrado médio (Tabela 2). As variâncias foram expressas em porcentagem ao quadrado de plântulas normais, sendo a variância de repetitividade ($\hat{\sigma}_r^2$), variabilidade entre repetições por espécie, igual à estimativa do quadrado médio do resíduo (QM_r) e definida por:

$$\hat{\sigma}_r^2 = QM_r \quad (2)$$

onde QM_r é o quadrado médio do resíduo da análise de variância.

Tabela 2. Quadro de análise de variância com dois fatores (lote e laboratório), causas de variação, graus de liberdade, soma de quadrados, quadrados médios, esperanças do quadrado médio e estatísticas F (HICKS, 1973).

Causas de variação ¹	gl	SQ	QM	$E(QM)$	F
Lote	$a - 1$	SQ_i	QM_i	$\sigma_r^2 + n_{ij}\sigma_I^2 + n_{ij}b\sigma_i^2$	$\frac{QM_i}{QM_r}$
Laboratório	$b - 1$	SQ_j	QM_j	$\sigma_r^2 + n_{ij}\sigma_I^2 + n_{ij}a\sigma_j^2$	$\frac{QM_j}{QM_r}$
Lote*Laboratório	$(a-1)(b-1)$	SQ_I	QM_I	$\sigma_r^2 + n_{ij}\sigma_I^2$	$\frac{QM_I}{QM_r}$
Resíduo	$ab(n_{ij} - 1)$	SQ_r	QM_r	σ_r^2	
Total	$n - 1$	SQ_T		σ_T^2	

¹ n e n_{ij} é o número de parcelas e de repetições, respectivamente; a é o número de lotes, b o número de laboratórios; SQ_i , SQ_j , SQ_I , SQ_r e SQ_T soma de quadrados de lote, de laboratório, de interação, do resíduo e total, respectivamente; QM_i , QM_j , QM_I e QM_r : quadro médio de lote, de laboratório, de interação e do resíduo, respectivamente; $E(QM)$: esperança do quadrado médio; e σ_i^2 , σ_j^2 , σ_I^2 , σ_r^2 e σ_T^2 : variâncias de lote, de laboratório, de interação, do resíduo (repetitividade) e total, respectivamente.

Pelo desdobramento da esperança do quadrado médio, a estimativa da variância de reprodutibilidade ($\hat{\sigma}_R^2$) é dada por:

$$\hat{\sigma}_R^2 = \hat{\sigma}_j^2 + \hat{\sigma}_I^2 \text{ sendo: } \hat{\sigma}_j^2 = \frac{QM_j - QM_I}{n_{ij}a} \text{ e } \hat{\sigma}_I^2 = \frac{QM_I - QM_r}{n_{ij}}, \quad (3)$$

onde $\hat{\sigma}_j^2$ é a variância de laboratório, $\hat{\sigma}_I^2$ é a variância da interação, n_{ij} é o número de repetições, a é número de lotes e QM_j , QM_I e QM_r são os quadrados médios de laboratório, da interação e do resíduo, respectivamente.

A soma da variância de repetitividade e de reprodutibilidade forneceu a estimativa da variância de R&R ($\hat{\sigma}_{R\&R}^2$) e é definida por:

$$\hat{\sigma}_{R\&R}^2 = \hat{\sigma}_r^2 + \hat{\sigma}_R^2 \quad (4)$$

onde $\hat{\sigma}_r^2$ é a variância de repetitividade e $\hat{\sigma}_R^2$ é a variância de reprodutibilidade.

Para a estimativa do percentual de contribuição, a variância total da análise ($\hat{\sigma}_T^2$) foi obtida:

$$\hat{\sigma}_T^2 = \hat{\sigma}_{R\&R}^2 + \hat{\sigma}_i^2 \quad \text{sendo: } \hat{\sigma}_i^2 = \frac{QM_i - QM_I}{n_{ij}b}, \quad (5)$$

onde $\hat{\sigma}_{R\&R}^2$ é variância de R&R, σ_i^2 é a variâncias de lote, QM_i e QM_I são os quadrados médios de lote e da interação, respectivamente, n_{ij} é o número de repetições e b é o número de laboratórios.

A partir da variância total, a porcentagem de contribuição de cada variância em relação à variância total foi estimada, sendo a de repetitividade definida por:

$$C_r = \frac{\hat{\sigma}_r^2}{\hat{\sigma}_T^2} 100; \text{ a de reprodutibilidade por } C_R = \frac{\hat{\sigma}_R^2}{\hat{\sigma}_T^2} 100 \text{ e do estudo de R\&R por:}$$

$$C_{R\&R} = \frac{\hat{\sigma}_{R\&R}^2}{\hat{\sigma}_T^2} 100$$

onde $\hat{\sigma}_r^2$ é a variância de repetitividade, $\hat{\sigma}_R^2$ é a variância de reprodutibilidade, $\hat{\sigma}_{R\&R}^2$ é variância de R&R e $\hat{\sigma}_T^2$ é a variância total da análise.

Os desvios padrão de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R foram obtidos pela raiz quadrada da variância, ambos expressos em porcentagem de plântulas normais, e com a divisão do desvio padrão pelo percentual médio de plântulas normais

($\bar{y}_{...}$) foram obtidos os coeficientes de variação de repetitividade ($CV_r = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_r^2}}{\bar{y}_{...}} 100$), de

reprodutibilidade ($CV_R = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_R^2}}{\bar{y}_{...}} 100$) e do estudo de R&R ($CV_{R\&R} = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_{R\&R}^2}}{\bar{y}_{...}} 100$);

onde $\bar{y}_{...}$ é a média geral de plântulas normais, $\hat{\sigma}_r^2$, $\hat{\sigma}_R^2$ e $\hat{\sigma}_{R\&R}^2$ são respectivamente as estimativas das variâncias de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R.

Variâncias de reprodutibilidade negativas foram consideradas coeficientes de variação nulos (zero).

De acordo com a distribuição dos valores do coeficiente de variação de R&R um sistema de classificação desse coeficiente foi proposto e utilizado para julgar a qualidade dos processos de validação de método para testes de germinação de sementes das 50 espécies florestais. Coeficientes de variação de R&R foram classificados como ótimos quando menores que 13% ($CV_{R\&R} < 13\%$) independentemente do percentual de plântulas normais; bons entre $13\% \leq CV_{R\&R} < 20\%$, para lotes com até 60% de plântulas normais e regulares para lotes com mais de 60% (Figura 1) e coeficientes entre $20\% \leq CV_{R\&R} < 27\%$ foram considerados regulares para lotes com até 50% de plântulas normais e ruins para lotes com percentuais superiores. Entretanto, independentemente do percentual de plântulas normais foram considerados ruins quando os coeficientes foram superiores a 27% ($CV \geq 27\%$).

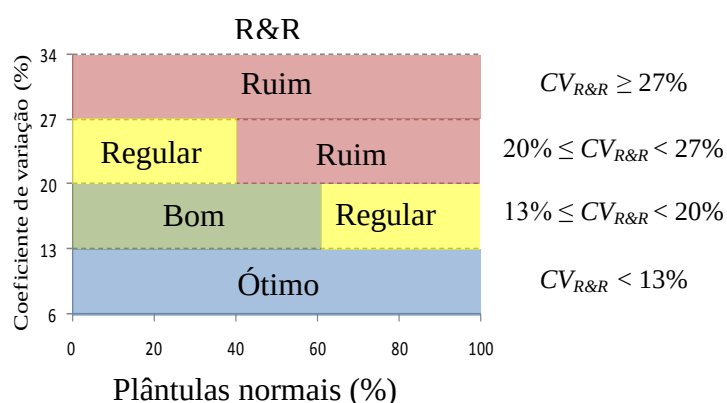


Figura 1. Adjetivos para intervalos de coeficientes de variação de R&R obtido do processo de validação de métodos para testes de germinação de sementes de 50 espécies florestais brasileiras.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em testes de germinação de sementes de espécies florestais brasileiras, variâncias de repetitividade, para a característica plântulas normais, foram sempre maiores que as de reprodutibilidade e contribuíram mais para a variância de R&R (Tabela 1B). Algumas espécies apresentaram variâncias de reprodutibilidade negativa e nestes casos as variâncias de R&R assumiram valores menores do que repetitividade, entretanto na maioria das espécies, variâncias de R&R foram superiores as de repetitividade. Variâncias de plântulas normais para o efeito de lote foram as maiores fontes de variações das análises.

Elevadas variâncias de reprodutibilidade, embora menores que de repetitividade, ocorreram na mesma proporção para espécies com e sem dormência tegumentar das sementes, porém a causa das maiores variabilidades em testes de germinação para sementes com e sem dormência foram distintas. Maiores variâncias de reprodutibilidade devido a altas variâncias de interação (Tabela 1B) foram encontradas em espécies com sementes dormentes, como *Erythrina speciosa* e *Ormosia arborea*, indicando que para estas espécies altas variabilidades em reprodutibilidade dependem do lote e do cunho pessoal do analista durante a escarificação da semente.

A dependência do lote e do laboratório nos resultados de análises em espécies com sementes dormentes podem ter como causa diferenças na espessura do tegumento. A espessura do tegumento varia entre as sementes e entre os lotes de sementes (VEASEY et al., 1999), sendo que sementes com tegumentos mais finos estão mais susceptíveis a escarificação excessiva e, segundo Mcdonald e Copeland (1997), a escarificação excessiva pode causar danos e diminuir a germinação. Além disso, o processo de escarificação, se não realizado com sanidade, pode ser fonte de contaminação e meio de disseminação de fungos para outras sementes.

Por outro lado, altas variâncias de reprodutibilidade devidas a elevadas variâncias de laboratório ocorreram em espécies como *Cariniana legalis*, *Cordia americana* e *Dalbergia miscolobium*, com sementes sem dormência tegumentar. Para estas os valores elevados ocorrem igualmente para todos os lotes analisados em um mesmo laboratório. Esse resultado indica que embora sejam esperadas maiores variações em testes de germinação em função das variações experimentais não controladas (KRUSE et al., 2009) problemas no laboratório, como pouca sanidade e

classificação imprecisa de plântulas normais, que deveriam ser variações controladas, podem ser a causa de variâncias elevadas.

Variâncias de laboratório e da interação apresentaram em alguns casos valores negativos, como consequência em algumas espécies a reprodutibilidade também foi negativa. Variâncias de reprodutibilidade negativa ocorreram em *Acacia polyphylla*, *Albizia hassleri*, *Copaifera langsdorffii*, *Dalbergia nigra*, *Handroanthus roseo-albus*, *Mimosa caesalpiniiifolia*, *Parapiptadenia rigida*, *Peltogyne confertiflora* e *Stryphnodendron polyphyllum* e indicaram que variações nas análises entre os laboratórios foram inferiores as variações entre repetições. Nesses casos, a variância de R&R foi minimizada, sendo menor que a variância de repetitividade.

Em análises de solos diferenças entre laboratórios foram superiores do que as diferenças entre repetições (CAMPOS et al. 1999). Esse resultado é esperado, pois em análises de materiais sem carga genética a maior fonte de variação não deve ocorrer entre repetições, que são analisadas pelo mesmo analista e com as mesmas substâncias e equipamentos, mas entre as análises realizadas em diferentes laboratórios. Entretanto, mesmo em análises de materiais com variabilidade genética, como sementes de espécies cultivadas, variações entre análises são mais elevadas em relação às variações entre repetições, como ocorrido em testes de germinação de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) (DUCOURNAU et al., 2008), de ervilha (*Pisum sativum*) (FIELDER et al., 2008), de *Vicia faba* L. (DUCOURNAU et al., 2009), de nabo forrageiro (*Raphanus sativus* var. *Oleiferus*) (KATAOKA, 2009) e de milho (*Zea mays* L.) (MATTHEWS et al., 2011).

Em contrapartida, em testes de germinação de sementes de espécies florestais as variâncias entre repetições (repetitividade) podem ser superiores às variâncias entre análises (R&R) e são as que mais contribuem para o aumento da variabilidade. Assim provavelmente a maior variabilidade genética das espécies florestais (WIELEWICKI et al., 2006) seja a principal causa de as análises de sementes de espécies florestais possuírem grande variabilidade nas respostas obtidas (LORENTZ et al., 2006).

Além da variabilidade genética, diferenças entre análises de sementes podem ter como causas variações não controladas, deficiência de equipamentos, incluindo variações dentro do germinador, deficiência do próprio método, erros ou inconsistência na distinção entre plântulas normais e anormais, fungos e bactérias, contagens ou registros imprecisos e não casualidade do teste (MILES, 1963). No processo de validação de métodos os testes de germinação de sementes foram casualizados (Figura

4A) e as principais anormalidades de plântulas detalhadas no protocolo (Figura 2A). Entretanto, problemas com o método podem ser a causa de maiores variações entre análises como a padronização do volume de água (GENTIL; TORRES, 2001) o posicionamento das sementes no rolo de papel (ANDRADE; PEREIRA, 1994) e a temperatura para a germinação (ANDRADE; PEREIRA, 1994). Além disso, os analistas devem ser bem treinados para eliminar a subjetividade e tornar os resultados das avaliações compatíveis e comparáveis (NAKAGAWA, 1999).

Independentemente se avaliados em variâncias, percentuais de contribuição ou coeficientes de variação repetitividade foi sempre maior que reprodutibilidade, reprodutibilidade contribuiu pouco para a variabilidade em R&R e a distribuição dos valores de R&R se assemelharam com os de repetitividade (Tabela 2B). Isso ocorreu porque para obtenção dos percentuais de contribuição as variâncias de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R são divididas pelo mesmo divisor, mantendo a proporção entre os resultados, e essa proporção também se mantém quando os valores são analisados em coeficientes de variação. Entretanto as dispersões dos resultados de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R em variância, percentual de contribuição e em coeficiente de variação não foram as mesmas.

Em reprodutibilidade as dispersões da variância, do percentual de contribuição e do coeficiente de variação se assemelharam, mas apresentaram escalas distintas (Figura 2). Isso se deve ao fato de as variâncias de reprodutibilidade terem apresentado valores muito baixos, contribuindo pouco para a variação das análises. Diferenças na distribuição dos valores de reprodutibilidade ocorreram devido aos valores negativos de variância que foram considerados valores nulos de coeficientes de variação. Entretanto em repetitividade e R&R, por apresentaram valores numéricos mais elevados em relação à reprodutibilidade, tiveram maiores diferenças das dispersões das variâncias em relação às dispersões das porcentagens de contribuição e dos coeficientes de variação (Figura 2). Porém as distribuições dos valores de repetitividade e de R&R não deixaram de ser semelhantes entre si.

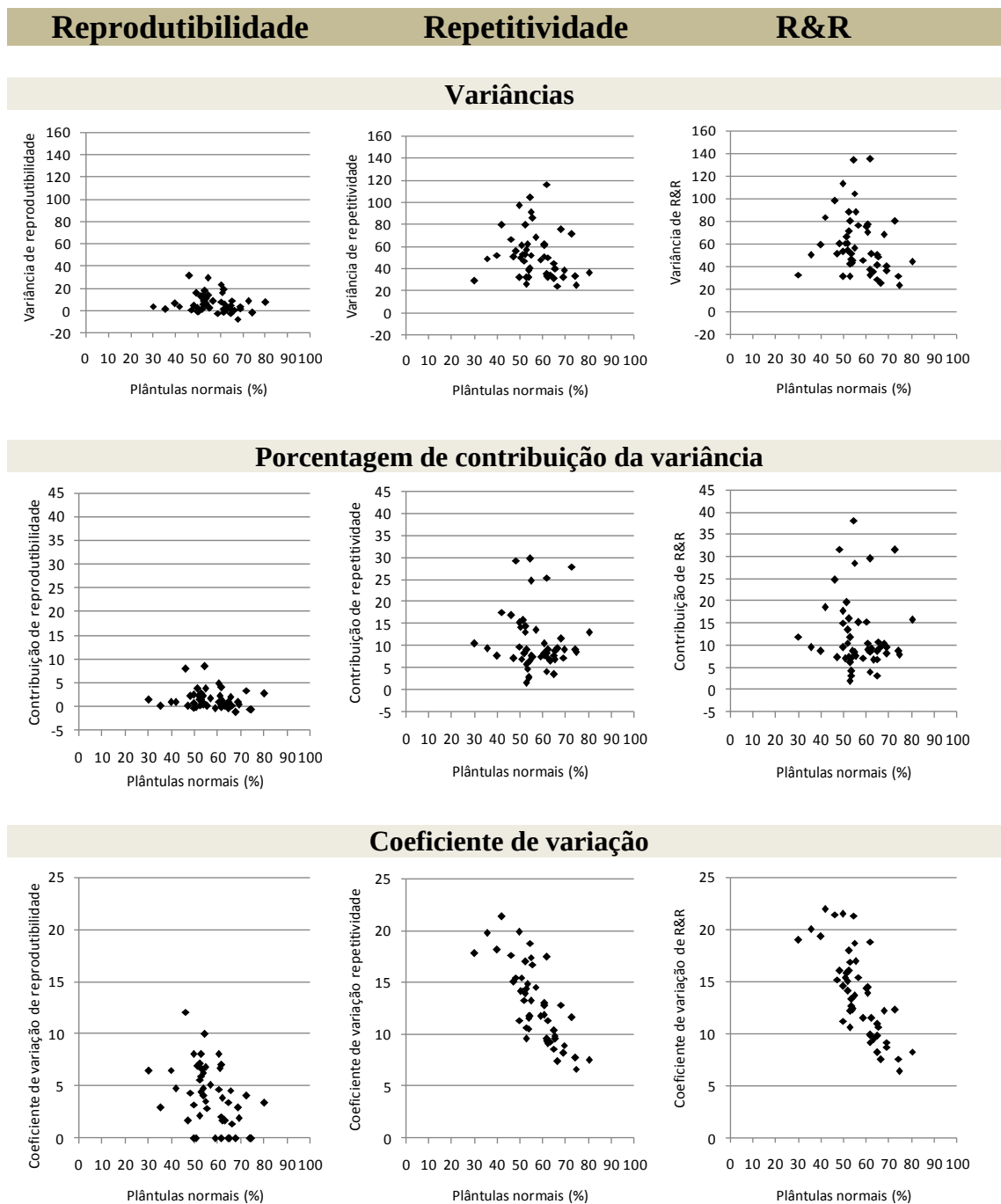


Figura 2. Gráfico de distribuição das variâncias, desvio padrão, porcentagem de contribuição e coeficiente de variação de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R por percentual de plântulas normais.

Variâncias de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R oscilaram entre baixos e altos valores no intervalo entre 45 e 75% de plântulas normais, não sendo capaz de estabelecer relação entre R&R e a qualidade das sementes. Segundo Kataoka

(2009), a variância da proporção é uma função quadrática da própria proporção (p), sendo que quanto mais próximo de 50%, maior é a variação. Isso explica o fato das variâncias serem maiores em análises estatísticas com média de plântulas normais próxima de 50%.

Em testes de germinação de *Vicia faba* L. menores variabilidades ocorreram para lotes de sementes com maior percentual de plântulas normais (DUCOURNAU et al., 2009) indicando que a variabilidade de testes de germinação de sementes decrescem com o aumento da qualidade do lote analisado. Porém as variâncias não foram capazes de detectar as elevadas variações em testes envolvendo espécies com lotes de sementes de baixa qualidade, não sendo uma boa ferramenta para medir a qualidade do processo de validação. Além disso, os valores de desvio padrão de repetitividade e reprodutibilidade dependem da escala e da unidade de medição, sendo difícil comparar seus valores com dados de validação anteriores (POWELL, 2009), o mesmo ocorre para variâncias.

O percentual de contribuição não foi acompanhado de mesma grandeza das variâncias (Figura 2). Espécies com variâncias de reprodutibilidade semelhante e com percentual médio de plântulas normais próximos, como *Cariniana estrellensis* e *Anadenanthera macrocarpa*, obtinham percentuais de contribuição diferentes (Tabela 2B). Isso também ocorreu em repetitividade entre *Mimosa scabrella* e *Qualea grandiflora* e entre *Anadenanthera colubrina* e *Senna macranthera* que apresentaram variâncias de repetitividade semelhante e percentual médio de plântulas normais próximo, porém os percentuais de contribuição eram distintos; e em R&R entre *Schinus terebinthifolius* e *Mimosa scabrella* e entre *Handroanthus impetiginosus* e *Handroanthus roseo-albus*, com variâncias de R&R e percentual médio de plântulas normais semelhantes, porém com percentuais de contribuição muito diferentes. Isso se deve porque o percentual de contribuição é calculado sobre a variância total da análise, e a variância total da análise, por sua vez, é dependente da variância de lote. Assim, quando o processo de validação envolveu lotes de qualidades bem distintas, a variância total da análise aumentou e o percentual de contribuição foi minimizado, e quando os lotes de sementes foram pouco distintos, a variância total diminuiu e a porcentagem de contribuição foi superestimada (Figura 3).

Além dos valores, as oscilações dos resultados de porcentagem de contribuição também foram maiores em espécies com menores amplitudes entre os lotes, diminuindo com o aumento da variabilidade entre os lotes (Figura 3). Entretanto, isso ocorre por

uma questão matemática: os valores analisados em porcentagem variam de maneira inversamente proporcional ao divisor, se o dividendo permanece constante e o divisor aumenta, o percentual diminui e na mesma proporção diminui a oscilação dos resultados.

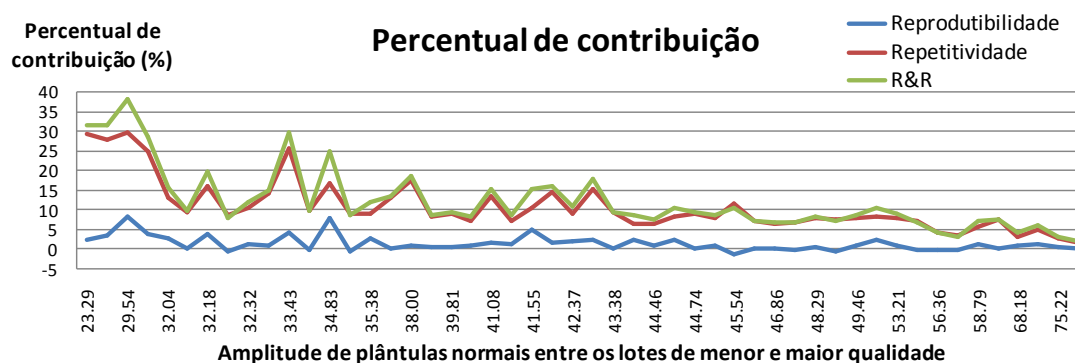


Figura 3. Percentual de contribuição de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R pela amplitude de plântulas normais entre os lotes de menor e maior qualidade.

Por ser influenciado pela variabilidade entre os lotes de sementes, o percentual de contribuição das variâncias não foram boas ferramentas para avaliar o desempenho de processos de validação de métodos para testes de germinação de sementes. Entretanto, a maioria dos processos foi considerada aceita ou adequada segundo sistemas de classificação do percentual de contribuição de R&R utilizado em processos industriais.

Para o AIAG (2002), em sistemas de medição cuja finalidade seja a análise do processo de produção, o percentual de contribuição do estudo de R&R na variância total deve ser menor que 10% para que o sistema de medição seja adequado; em contribuições de R&R entre 10% e 30%, o sistema de medição pode ser aceito dependendo de custos e dos benefícios; em erro acima de 30%, o sistema de medição não é aceitável, sendo necessárias medidas para melhorá-lo. Pela classificação sugerida por AIAG (2002), processos de validação de métodos para testes de germinação de sementes de três espécies (*Apuleia leiocarpa*, *Mimosa scabrella* e *Enterolobium maximum*) seriam rejeitados pela contribuição de R&R superior a 30%, entretanto, 58% teriam variabilidade adequada e 36% teriam variabilidade aceitável ou não dependendo de custo ou outros fatores (Figura 4).

Frequência do Percentual de Contribuição de R&R

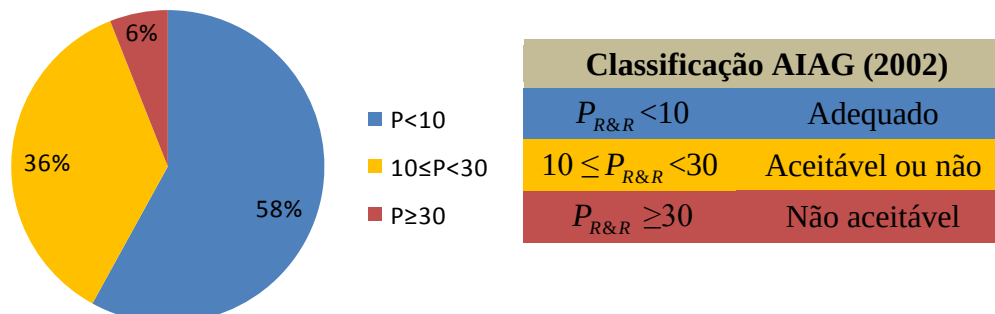


Figura 4. Frequência do percentual de contribuição de R&R e classificação do percentual de contribuição de R&R de sistemas de medição segundo AIAG (2002).

Apesar de um número relativamente alto de métodos para testes de germinação ter sido classificado, segundo a AIAG (2002), como aceitável ou não, dependendo de custo ou outros fatores (36%), muitos trabalhos de sistemas de medições em processos de produção freqüentemente encontram valores nesta faixa mesmo depois de aplicado o controle estatístico do processo (ALBERTIN et al., 2011; ALVES et al., 2003). Assim, apesar da variabilidade genética de espécies florestais ser elevada (WIELEWICKI et al., 2006), a contribuição da variância de R&R na variância total das análises é comparável com a contribuição de R&R em processo de medição de peças e produtos sem carga genética.

Para a classificação segundo Barrentine (2003), porcentagens de contribuição de R&R igual ou inferior a 20% são considerados bons; entre 20% e 30% ($20\% < P_{R\&R} \leq 30\%$) são aceitáveis; e porcentagens de contribuição de R&R maiores que 30% são inaceitáveis. Seguindo esta classificação, 44 processos de validação seriam considerados com um bom desempenho, três teriam desempenho aceitável e os 3 demais, processos de *Apuleia leiocarpa*, *Mimosa scabrella* e *Enterolobium maximum*, continuariam sendo recusados pela alta variabilidade (Figura 5).

Frequência do Percentual de Contribuição de R&R

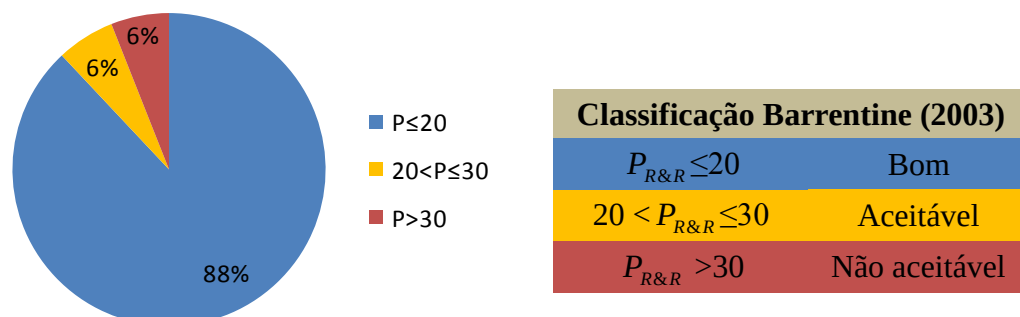


Figura 5. Frequência do percentual de contribuição de R&R e classificação do percentual de contribuição de R&R de sistemas de medição segundo Barrentine (2003).

Apesar das espécies *Apuleia leiocarpa*, *Mimosa scabrella* e *Enterolobium maximum* terem percentuais de contribuição de R&R superiores a 30%, essa alta variabilidade em parte deveu-se a variância de lotes muito baixa. Entretanto, um método não poderia ser desclassificado pela baixa variabilidade dos lotes de sementes, principalmente porque a análise de R&R só é feita se no teste de *F* for confirmado que os lotes são diferentes estatisticamente. Além disso, assim como as variâncias, os percentuais de contribuição não foram capazes de detectar as elevadas variações que ocorrem em testes de germinação com espécies que possuem sementes de baixa qualidade. Entretanto, diferenças existiram entre a distribuição do coeficiente de variação em relação ao percentual de contribuição e a variância de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R (Figura 2).

O coeficiente de variação, uma medida adimensional e relativa ao valor médio (CARVALHO et al., 2002) na maioria das espécies não foi acompanhado das mesmas grandezas da variância. Em reprodutibilidade algumas espécies como *Jacaranda cuspidifolia*, *Albizia hassleri* e *Peltophorum dubium*, apresentaram variâncias de reprodutibilidade semelhante, porém tiveram coeficientes de variação diferentes (Tabela 2B). Em repetitividade, espécies com variância semelhantes, como *Mimosa caesalpiniiifolia* e *Dalbergia nigra*, também apresentaram coeficientes de variação diferentes. Isso também ocorreu em R&R entre *Lafoensia pacari* e *Citharexylum myrianthum*, entre *Handroanthus aureus* e *Senna multijuga* e entre outras espécies, sendo que diferenças entre variâncias e coeficientes de variação ocorrem porque as

medidas absolutas não levam em consideração as diferenças nos percentuais médios de plântulas normais.

Apesar de ambos serem expressos em porcentagem o coeficiente de variação não foi acompanhado de mesma grandeza do percentual de contribuição (Tabela 2B). Em reprodutibilidade, o coeficiente de variação foi sempre maior ou igual ao percentual de contribuição de reprodutibilidade, porém em proporções diferentes. Em espécies com coeficientes de variação de reprodutibilidade muito próximos (*Apuleia leiocarpa* e *Astronium fraxinifolium*) o percentual de contribuição foi menor em proporções diferentes e em espécies com o mesmo percentual de contribuição (*Zeyheria tuberculosa*, *Citharexylum myrianthum* e *Senna multijuga*) o coeficiente de variação foi maior, mas com diferentes valores.

Em repetitividade, algumas espécies apresentaram coeficientes menores (*Mimosa scabrella*, *Cariniana estrellensis*, *Enterolobium maximum* e *Dalbergia miscolobium*, dentre outras) e outras, coeficientes de variação maiores que o percentual de contribuição de repetitividade (*Gallesia integrifolia*, *Cariniana legalis* e *Citharexylum myrianthum*, dentre outras). Isso se repetiu em R&R, com espécies com coeficiente de variação maior que o percentual de contribuição (*Citharexylum myrianthum*, *Gallesia integrifolia*, *Hymenaea stigonocarpa* e *Ormosia arborea*, dentre outros) e espécies com o coeficiente menor que a contribuição (*Guazuma ulmifolia*, *Mimosa scabrella*, *Dalbergia miscolobium* e *Enterolobium maximum*, dentre outras).

Em geral, espécies que apresentavam coeficientes de variação de repetitividade maiores que o percentual de contribuição, apresentavam também coeficientes de variação de R&R superiores ao percentual de contribuição. As exceções foram *Erythrina speciosa*, *Hymenaea courbaril* e *Ormosia arborea*, que apresentaram coeficientes de variação de repetitividade superior a porcentagem de contribuição de repetitividade e coeficientes de variação de R&R inferiores ao percentual de contribuição de R&R.

Os coeficientes de variação de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R foram capazes de detectar as elevadas variações que ocorrem em testes envolvendo espécies com sementes de baixa qualidade. Tanto os valores absolutos quanto a oscilação dos resultados diminuíram à medida que a qualidade média dos lotes aumentou (Figura 6). A diminuição dos valores relativos, à medida que a qualidade do lote aumenta, é esperada porque sementes com alta qualidade produzem altos percentuais de plântulas normais e baixos de anormais, diminuindo as dúvidas do

analista e conseqüentemente a variabilidade das análises. A diminuição da oscilação dos coeficientes de variação se dá porque se a variação do dividendo permanece constante e o divisor aumenta, o coeficiente (CV percentual) diminui e, proporcionalmente, diminui a diferença entre os resultados.

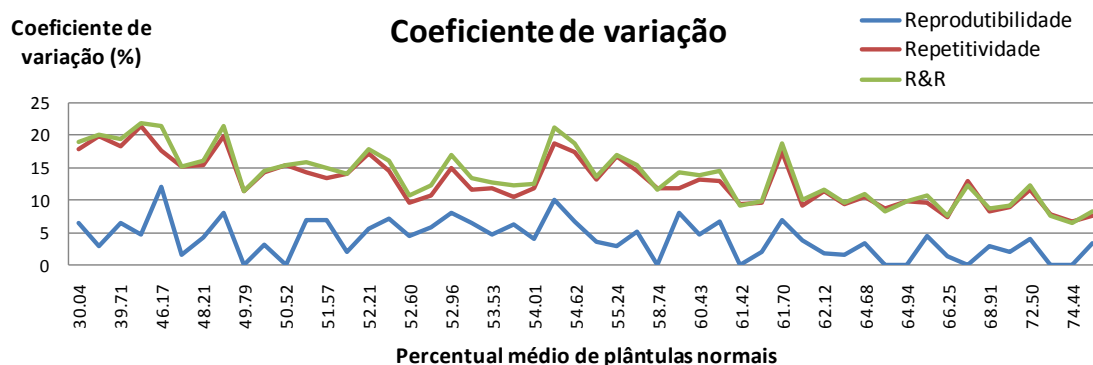


Figura 6. Coeficiente de variação de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R, pelo percentual médio de plântulas normais.

Um fator que pode contribuir para menor desempenho nas análises, principalmente em sementes de baixa qualidade, é a contaminação fúngica. Em testes de germinação com sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) variâncias de repetitividade e reprodutibilidade aumentaram com a contaminação de fitopatógenos (DUCOURNAU et al., 2008). Isso acontece porque lotes de sementes com baixa qualidade apresentam maior incidência de plântulas anormais infeccionadas que podem levar a contaminação de outras plântulas. Além disso, plântulas anormais são a principal fonte de dúvidas do analista e, se estão mais freqüentes, causam maior divergência entre as análises. Tendência semelhante foi encontrada em testes de germinação com sementes de *Brassica* spp. (ARANGUREN et al., 2007), de nabo forrageiro (*Raphanus sativus* var. *oleiferus*) (KATAOKA, 2009) e de ervilha (*Pisum sativum*) (FIELDER et al., 2008), em testes de condutividade com sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) (POWELL, 2009) e soja (*Glycine max*) (POWELL, 2010) e em testes de vigor em *Brassica* (POWELL, 2009) em que alguns laboratórios apresentavam resultados sempre subestimados em relação aos demais, indicando possível problema de sanidade durante os testes.

Processos de validação de métodos químicos e biomédicos são julgados baseados no coeficiente de variação repetitividade e reprodutibilidade (FONSECA et al., 2004; WORTMANN, 2004; RIBANI et al. 2004; PEIXOTO-SOBRINHO, et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2008; PASCHOAL et al., 2008; LOURENÇO et al., 2009;

GOUVEIA et al., 2009). Entretanto, a análise de ambos os coeficientes de variação (repetitividade e de reprodutibilidade) dificulta a avaliação, uma vez que um pode ser adequado e o outro ser muito elevado. Assim, o coeficiente de variação de R&R torna-se a melhor estatística para julgar a qualidade do processo de validação medindo conjuntamente a variabilidade entre repetições (repetitividade) e a variabilidade entre laboratórios (reprodutibilidade).

O coeficiente de variação de R&R se assemelhou ao coeficiente de variação de repetitividade, que corresponde ao próprio coeficiente de variação da análise de variância. Pimentel e Gomes (1987) consideram os coeficientes de variação da análise de variância como baixos, quando são inferiores a 10%; médios, quando estão entre 10 e 20%; altos, quando estão entre 20 e 30%, e muito altos, quando são superiores a 30%. Em espécies florestais, não foram encontrados coeficientes de variação de R&R superiores a 30%, valor considerado muito alto para Pimentel e Gomes (1987), também não foram encontrados coeficientes de variação inferiores a 5%. De maneira geral, quanto maior a qualidade dos lotes de sementes menor foi o coeficiente de variação de R&R e melhor o desempenho do método (Figura 7).

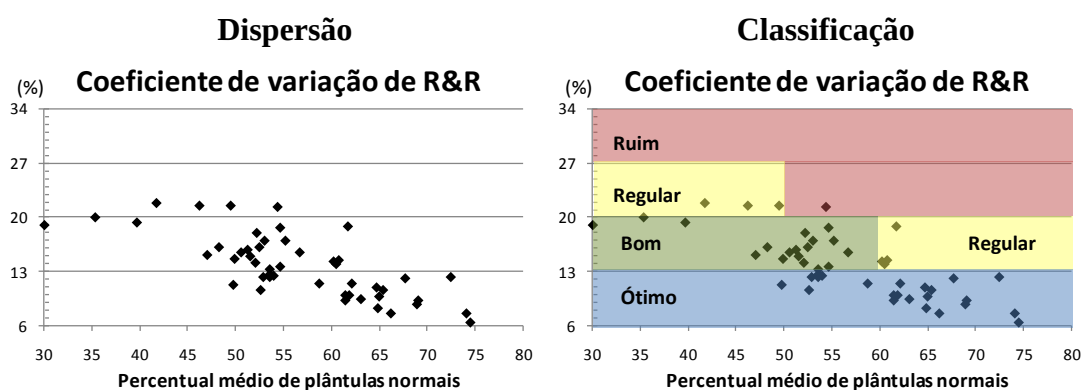


Figura 7. Dispersão do coeficiente de variação de R&R pelo percentual médio de plântulas normais e classificação dos resultados das análises segundo o intervalo em que se encontra o coeficiente e a média dos lotes de sementes.

A maioria dos processos para testes de germinação de sementes (48%) foram classificados como ótimos ($CV_R < 13\%$) (Figura 8). O único processo de validação classificado como ruim ocorreu em *Enterolobium maximum*, com coeficiente de variação de 21,30% e percentual médio de plântulas normais de 54,35% (Tabela 2B). Esta espécie apresentou percentual de contribuição acima de 30%, valor esse inaceitável pela AIAG (2002), comprovando que a variabilidade deste processo está muito acima da variabilidade ideal.

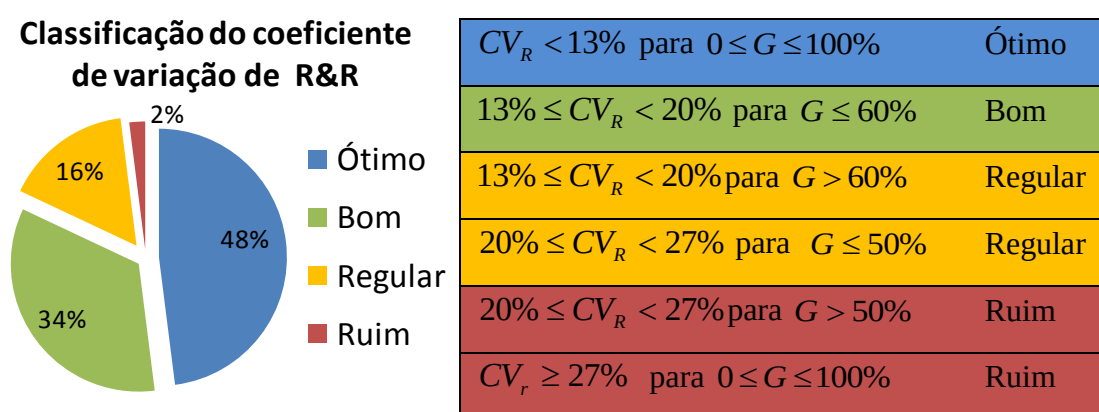


Figura 8. Qualidade dos métodos para testes de germinação de 50 espécies florestais brasileiras em função da classificação de coeficiente de variação de R&R para diferentes percentuais de plântulas normais (G).

As espécies *Apuleia leiocarpa* e *Mimosa scabrella*, que teriam o processo de validação desclassificado pela contribuição de R&R não aceitável (acima de 30%), apresentaram coeficientes de variação de 12,33 e 16,07%, sendo classificados como ótimo e bom, respectivamente. Essa diferença entre o coeficiente de variação e o percentual de contribuição das variâncias se deu pelo fato de o primeiro ser ponderado sobre o percentual médio de plântulas normais ($\bar{y}_{...}$) e o segundo, sobre a variância total da análise ($\hat{\sigma}_T^2$). Deste modo, a classificação pelo coeficiente de variação de R&R pode ser alterada caso novo processo de validação seja realizado com lotes de sementes de qualidade superior ou inferior a deste trabalho, porém, diferentemente do percentual de contribuição, os resultados não serão afetados pela variabilidade entre os lotes de sementes.

4 CONCLUSÕES

Em espécies com sementes dormentes variabilidades entre análises são dependentes do lote de sementes e do cunho pessoal do analista na execução do método de superação de dormência. No entanto, elevadas variabilidades ocorrem igualmente para sementes com e sem dormência tegumentar, sendo a variabilidade genética a maior causa de variações em testes envolvendo sementes de espécies florestais;

As variâncias do estudo de R&R são pouco eficazes para medir a variabilidade de testes de germinação de sementes à medida que a qualidade dos lotes diminuem. O percentual de contribuição das variâncias é influenciado pela variabilidade entre os lotes de sementes, e assim como as variâncias, não ponderam as reais variações que ocorrem em testes envolvendo sementes de qualidade intermediária;

Coeficientes de variação de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R são capazes de detectar as elevadas variações que ocorrem em testes de germinação de sementes de baixa qualidade e, diferentemente do percentual de contribuição, não são influenciados pela variabilidade entre os lotes de sementes. O coeficiente de variação de R&R é a estatística recomendada para avaliar o desempenho de processos de validação de métodos para análises de sementes;

Coeficientes de variação de R&R ótimos ocorreram em 48% dos processos de validação e apenas para *Enterolobium maximum* foi classificado como ruim. De maneira geral, quanto melhor a qualidade dos lotes de sementes melhor é o desempenho das análises, sendo provavelmente a contaminação fúngica a causa de maior variabilidade em testes envolvendo lotes de sementes de baixa qualidade.

5 REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Brasília: Ministro de Estado da Saúde, 2012. 23p.
- ALBERTIN, M.R.; SOARES JÚNIOR, L.; SILVA, J.B.A. Uma proposta para garantia da qualidade metrológica em peças de geometria complexa. **Gestão da Produção, Operações e Sistemas**, Bauru, v.6, n.3, p. 147-168, 2011.
- ALVES, E.U.; OLIVEIRA, A.P.; BRUNO, R.L.A.; SADER, R.; ALVE, A.U. Rendimento e qualidade fisiológica de sementes de coentro cultivado com adubação orgânica e mineral. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.27, n.1, p.132-137, 2005.
- ALVES, P.H.B.F.; NEUMANN, C.S.R.; RIBEIRO, J.L.D. Etapas para implantação de controle estatístico do processo: um estudo aplicado. In: XXIII ENEGEP - ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 23, v.23, 2003, Ouro Preto. **Anais...** Ouro Preto: ENEGEP, 2003, p.106.
- 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, v.16, n.1, p.34-40, 1994.
- ARANGUREN, B.; DON, R.; DUFFY, G.; GRÉGOIRE, S.; MARTINELLI, A. Validation of tetrazolium method for *Brassica* spp. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.4, p.53-62, 2007.
- AUTOMOTIVE INDUSTRY ACTION GROUP (AIAG). **Measurement Systems Analysis Reference Manual**. 3ed. Southfield: Chrysler Corporation, Ford Motor Company and General Motors Corporation, 2002. 239p.
- BARRENTTINE, L.B. **Concepts for R&R Studies**. 2ed. Milwaukee: America Society for Quality, 2003. 76p.
- BRASIL. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. 365p.
- BRASIL. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções normativas nº26 de 10 de setembro de 2012**. Brasília: Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2012.
- BRASIL. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções normativas nº35 de 14 de julho de 2011**. Brasília: Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2011.
- BRASIL. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções normativas nº44 de 23 de dezembro de 2010**. Brasília: Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2010.

- 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, M.P.; SORATTO, R.P.; FREDDI, O.S. Variabilidade espacial de atributos físicos em um latossolo vermelho distrófico sob preparo convencional em Selvíria, estado de Mato Grosso do Sul. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.24, n.5, p.1353-1361, 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.
- DUCOURNAU, S.; GARREAU, P.; LÉCHAPPÉ, J. Effect of temperature and growing media on sunflower germination. **Seed Testing International**, Basserdorf, n.135, p.34-36, 2008.
- DUCOURNAU, S.; GARREAU, P.; MALLET, L.; LÉCHAPPÉ, J. Use of organic growing media as primary substrate for the germination of *Vicia faba* L. seeds. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.58-63, 2009.
- FIELDER, K.A.; GUTORMSON, T.J.; BRIX-DAVIS, K.A.; CARLSON, L.N. Evaluation of crepe cellulose paper (Versa-Pak®) covered with sand as an ISTA medium. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.9-32, 2008.
- FILIPE, E. Validação dos métodos de calibração nos laboratórios nacionais de metrologia. In: ENCONTRO DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE METROLOGIA, v.1, 2007, Caparica. **Anais...** Caparica: Instituto Português da Qualidade, 2007. 11p.
- 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, v.23, n.2, p.113-116, 2001.
- GOUVEIA, E.R.; NASCIMENTO, R.T.; SOUTO-MAIOR, A.M.; ROCHA, G.J.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.
- HICKS, C.R. **Fundamental concepts in the design of experiment**. 2ed. New York: Holt, Rinehart and Winston, 1973. 349p.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **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.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). **Method validation for seed testing**, Bassersdorf: International Seed Testing Association, 2007. 70p.

KATAOKA, V.Y. **Testes estatísticos na validação de métodos e ensaios de proficiência interlaboriais em sementes de nabo forrageiro**. 2009. 244f. Tese (Doutorado em Estatística e experimentação agropecuária) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

KRUSE, M.; PIETILA, L.; DON, R.; HAMPTON, J. Validation of a cargo sampler and sampling stick without compartments for seed sampling in small seeded species. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.22-39, 2009.

LORENTZ, L.H.; FORTES, F.O.; LÚCIO, A.D. Análise de trilha entre as variáveis das análises de sementes de espécies florestais exóticas do rio grande do sul. **Revista Árvore**, Viçosa, v.30, n.4, p.567-574, 2006.

LOURENÇO, F.R.; SILVA, A.C.D.; YAMAMOTO, R.N.; PINTO, T.J.A. Validação de método de doseamento para aciclovir e aplicação em estudo de equivalência farmacêutica de creme contendo aciclovir. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v.30, n.3, p.273-276, 2009.

MATTHEWS, S.; WAGNER, M.H.; RATZENBOECK, A.; KHAJEH-HOSSEINI, M.; CASARINI, E.; EL-KHADEM, R.; EL YAKHLIFI, M.; POWELL, A.A. Evaluation of early counts of radicle emergence during germination as a repeatable and reproducible vigour test for maize. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.29-46, 2011.

MCDONALD, M.B.; COPELAND, L.O. **Seed production: principles and practices**. New Jersey: Chapman & Hall, 1997. 749 p.

MILES, S.R. Handbook of tolerances and of measures of precision for seed testing. **Proceedings of the International Seed Testing Association**, Zürich, v.28, n.3, p.525-686, 1963.

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. p.1-21, 1999.

NOMELINI, Q.S.S. **Enfoque estatístico na validação de métodos para teste de germinação de sementes florestais**. 2012. 171f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

OLIVEIRA, L.S.; SOUSA, S.J.G.; SILVA, R.V.; UCHOA, P.I.P.; CORREIA, P.P.B. Pellegrinotti, I.L.; BATISTA, G.R. Validação e reprodutibilidade de plataforma de salto com laser para altura do salto em voleibolistas. **Conexões: educação, esporte, lazer**, Campinas, v.6, ed. especial, p.111-121, 2008.

PASCHOAL, J.A.R., RATH, S., AIROLDI, F.P.S., REYES, F.G.R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**, São Paulo, v.31, n.5, p.1190-1198, 2008.

PEDOTT, A.H. **Análise de dados funcionais aplicada ao estudo de repetitividade e reprodutibilidade:** ANOVA das distâncias. 2010. 131f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de produção) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

PEIXOTO-SOBRINHO, T.J.S.; SILVA, C.H.T.P.; NASCIMENTO, J.E.; MONTERIO, 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, n.4, p.683-689, 2008.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 11ed. São Paulo: Nobel, 1985. 467 p.

POWELL, A.A. Evaluation of the controlled deterioration test as a repeatable and reproducible vigour test for *Brassica* species. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.92-123. 2009.

POWELL, A.A. Proposal for the addition of *Glycine max* as a species to which the conductivity test for seed vigour can be applied. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.19-24, 2010.

POWELL, A.A. Proposal for the addition of *Phaseolus vulgaris* as a species to which the conductivity test for seed vigour can be applied. **ISTA Method Validation Reports**. Basserdorf: International Seed Testing Association, n.6, p.82-91, 2009.

REGO, J.R.; COSTA-NETO, P.L.O. Avaliação de sistemas de medição utilizando quadrados latinos. **Gestão e Produção**, São Carlos, v.2, n.1, p. 70-86, 1995.

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.

VEASEY, E.A.; FREITAS, J.C.T.; SCHAMMASS, E.A. Variabilidade da dormência de sementes entre e dentro de espécies de *Sesbania*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.2, p.299-304, 2000.

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, v.28, n.3, p.191-197, 2006.

WORTMANN, A.C. **Quantificação de ferro em tecido hepático através de espectroscopia por absorção atômica:** Validação do método com fígado bovino e avaliação comparativa entre tecido fresco e tecido conservado em parafina. 2004. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência em Gastroenterologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

ANEXOS

ANEXO A

Página

Figura 1A. Protocolo para teste de germinação de <i>Stryphnodendron barbadetimam</i> (Vell.) Mart. contendo procedimentos para executar o método, incluindo o tipo de substrato, temperatura e dias após a semeadura para caracterização de normalidade em plântulas.....	79
Figura 2A. <i>Stryphnodendron barbadetimam</i> (Vell.) Mart. A. Sementes despontadas na lateral/ porção mediana (seta), sem atingir os cotilédones; B. Plântula normal, com alça hipocotilar, comum na espécie, e apresentando estruturas essenciais e desenvolvimento pleno; C. Plântula anormal, hipocótilo rugoso, fendilhado e bifurcado, apresentando danos nos tecidos de condução; D. Plântula anormal, hipocótilo fendilhado, atingindo tecidos de condução, região do colo com indícios de infecção induzindo à formação de raiz secundária e ausência de raiz primária; E. Plântula anormal, hipocótilo rugoso e raiz primária enovelada e pigmentada; F. Plântula anormal, raiz primária atrofiada; G. Plântula anormal, cotilédones e raiz primária infeccionados; H. Plântula anormal, cotilédones infeccionados e raiz primária pigmentada e atrofiada; I. Plântula anormal, infecção primária. Escala 0,5 cm.....	81
Figura 3A. Ficha de análise de germinação de sementes encaminhada para os laboratórios executores dos testes em <i>Stryphnodendron barbadetimam</i>	82
Figura 4A. Croqui do sorteio das repetições do teste de germinação realizado em três lotes de sementes semeadas em rolo de papel (a) e em caixas gerbox (b).....	83
Tabela 1A. Variância (s_r^2, s_R^2), desvio padrão (s_r, s_R) e coeficiente de variação (CV_r, CV_R), de repetitividade e reprodutibilidade, incluindo adjetivos, para plântulas normais obtidas em testes de germinação de sementes de 50 espécies florestais brasileiras. Hachuras de coloração rosa referem-se aos menores valores de variância, desvio padrão e coeficiente de variação e hachuras de coloração azul, maiores valores.....	84
Tabela 2A. Estatística k de Mandel para a característica plântulas normais de testes de germinação (G) de sementes de 50 espécies florestais brasileiras. Valores hachurados indicam valores de h acima dos críticos nas significâncias estabelecidas (0.05 e 0.01).....	87
Tabela 3A. Estatística h de Mandel para a característica plântulas normais (G) de testes de germinação de sementes de 50 espécies florestais brasileiras. Valores hachurados indicam valores de h acima dos críticos nas significância estabelecidas (0.05 e 0.01).....	91

Tabela 1B. Variâncias de laboratório, da interação, de reprodutibilidade, de repetitividade, de R&R e de lote, bem como os percentuais de plântulas normais dos lotes de sementes de qualidades fisiológicas distintas, a porcentagem média e a amplitude entre os lotes de baixa e de alta qualidade.....	96
Tabela 2B. Variâncias, contribuição da variância e coeficiente de variação de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R, porcentagem média de plântulas normais e amplitude entre os lotes de sementes de baixa e de alta qualidade para a característica plântulas normais em testes de germinação de sementes de espécies florestais brasileiras. Hachuras de coloração rosa referem-se a coeficientes de variação maiores que os seus respectivos percentuais de contribuição.....	99

ANEXO A

Protocolo de *Stryphnodendron barbadetimam* (Vell.) Mart.

Família: Fabaceae

Nome comum: fava-xixica

Substrato	Temperatura (°C)	Contagem em dias	
		1 ^a	Final
Rolo de Papel (RP)	25	10	14

Procedimentos para executar o método

- 1º) Imergir as sementes em solução de hipoclorito de sódio a 0,125% (5% da solução comercial com 2 a 2,5% de princípio ativo);
- 2º) Agitar cuidadosamente e deixar em repouso por 2 a 5 minutos;
- 3º) Lavar as sementes em água corrente, com auxílio de uma peneira, para a remoção da solução;
- 4º) Realizar o último enxágue, preferencialmente, com água destilada;
- 5º) Dispor as sementes sobre papel absorvente e aguardar até que estejam secas;
- 6º) Despontar lateralmente a semente na porção mediana, com cortador "tipo de unha", **sem atingir os cotilédones** (Figura 1A);
- 7º) Repetir os procedimentos 1º ao 4º;
- 8º) Imergir as sementes, preferencialmente, em água destilada por 3 minutos;
- 9º) Dispor as sementes sobre papel absorvente e semear imediatamente;
- 10º) Dispor os rolos em equipamento regulado para a temperatura indicada;
- 11º) Realizar a avaliação das plântulas nas datas de contagens indicadas.

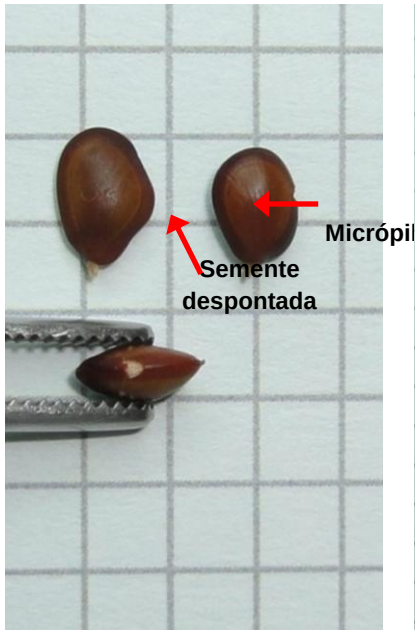
Informações relevantes

Limpar o cortador “tipo de unha” com álcool antes e durante o desponte das sementes para reduzir a contaminação.

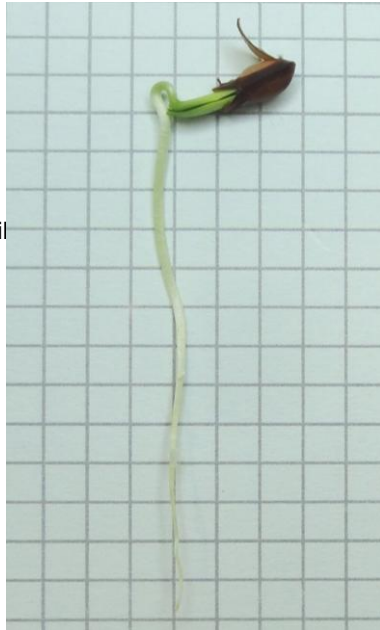
As sementes despontadas podem permanecer por até 24 horas em câmara seca. Visando evitar a perda de umidade ou contaminação, antes do armazenamento, recomenda-se acondicioná-las em saco de papel tipo Kraft, envolto por saco plástico ou em recipiente que possa ser vedado.

Figura 1A. Protocolo para teste de germinação de *Stryphnodendron barbadetimam* (Vell.) Mart. contendo procedimentos para executar o método, incluindo o tipo de substrato, temperatura e dias após a semeadura para caracterização de normalidade em plântulas.

Stryphnodendron barbadetiman (Fava-xixica)



A. Sementes despontadas



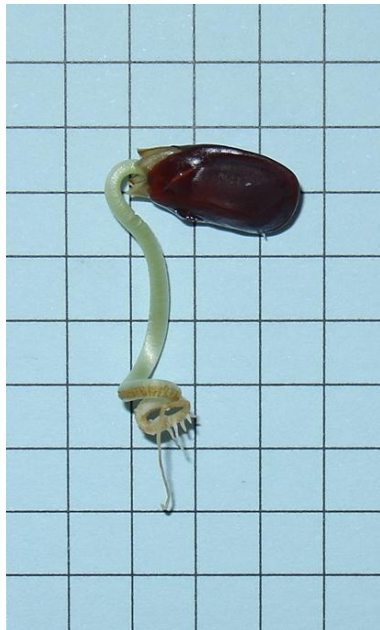
B. Plântula normal



C. Plântula anormal



D. Plântula anormal



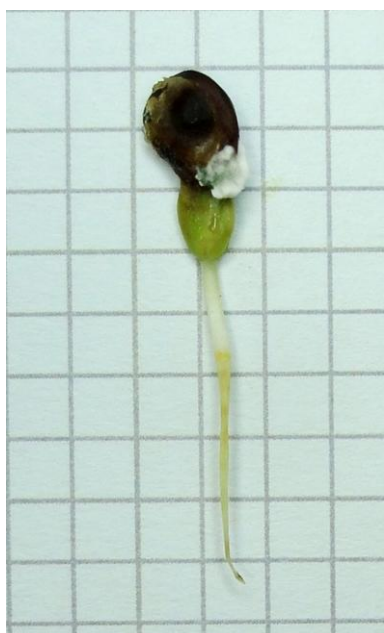
E. Plântula anormal



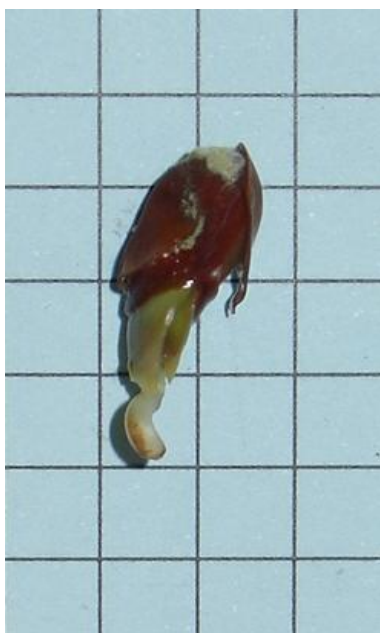
F. Plântula anormal

Continua...

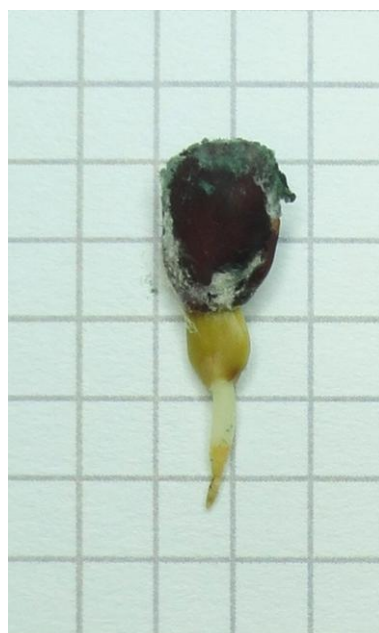
Continuação...



G. Plântula anormal



H. Plântula anormal



I. Plântula anormal

Figura 2A. *Stryphnodendron barbadetimam* (Vell.) Mart. A. Sementes despontadas na lateral/porção mediana (seta), sem atingir os cotilédones; B. Plântula normal, com alça hipocotilar, comum na espécie, e apresentando estruturas essenciais e desenvolvimento pleno; C. Plântula anormal, hipocótilo rugoso, fendilhado e bifurcado, apresentando danos nos tecidos de condução; D. Plântula anormal, hipocótilo fendilhado, atingindo tecidos de condução, região do colo com indícios de infecção induzindo à formação de raiz secundária e ausência de raiz primária; E. Plântula anormal, hipocótilo rugoso e raiz primária enovelada e pigmentada; F. Plântula anormal, raiz primária atrofiada; G. Plântula anormal, cotilédones e raiz primária infeccionados; H. Plântula anormal, cotilédones infeccionados e raiz primária pigmentada e atrofiada; I. Plântula anormal, infecção primária. Escala 0,5 cm.

FICHA DE ANÁLISE							
LABORATÓRIO:				AMOSTRA Nº:		LOTE:	
ESPÉCIE:				DATA RECEBIMENTO DA AMOSTRA:			
NOME POPULAR:				DATA INÍCIO:		DIAS PARA CONTAGEM:	
TRATAMENTO ESPECIAL:				SUBSTRATO:		TEMPERATURA:	
Nº REPETIÇÕES:		Nº DE SEMENTES/ REPETIÇÃO:		GERMINADOR Nº: () MANGELSDORF () BOD			
DATA DA 1ª CONTAGEM:				DATA DA 2ª CONTAGEM:			
		PLÂNTULA		SEMENTE			RUBRICA ANALISTA
REPETIÇÃO	CONTAGEM	NORMAL	ANORMAL	MORTA	INTUMESCIDA	DURA	
R 1	1ª				-O-	-O-	
	2ª				-O-	-O-	
TOTAL					-O-	-O-	
R 2	1ª				-O-	-O-	
	2ª				-O-	-O-	
TOTAL					-O-	-O-	
R 3	1ª				-O-	-O-	
	2ª				-O-	-O-	
TOTAL					-O-	-O-	
R 4	1ª				-O-	-O-	
	2ª				-O-	-O-	
TOTAL					-O-	-O-	
R 5	1ª				-O-	-O-	
	2ª				-O-	-O-	
TOTAL					-O-	-O-	
R 6	1ª				-O-	-O-	
	2ª				-O-	-O-	
TOTAL					-O-	-O-	
R 7	1ª				-O-	-O-	
	2ª				-O-	-O-	
TOTAL					-O-	-O-	
R 8	1ª				-O-	-O-	
	2ª				-O-	-O-	
TOTAL					-O-	-O-	
TOTAL GERAL					-O-	-O-	
Observações:							

Figura 3A. Ficha de análise de germinação de sementes encaminhada para os laboratórios executores dos testes em *Stryphnodendron barbadetimam*.

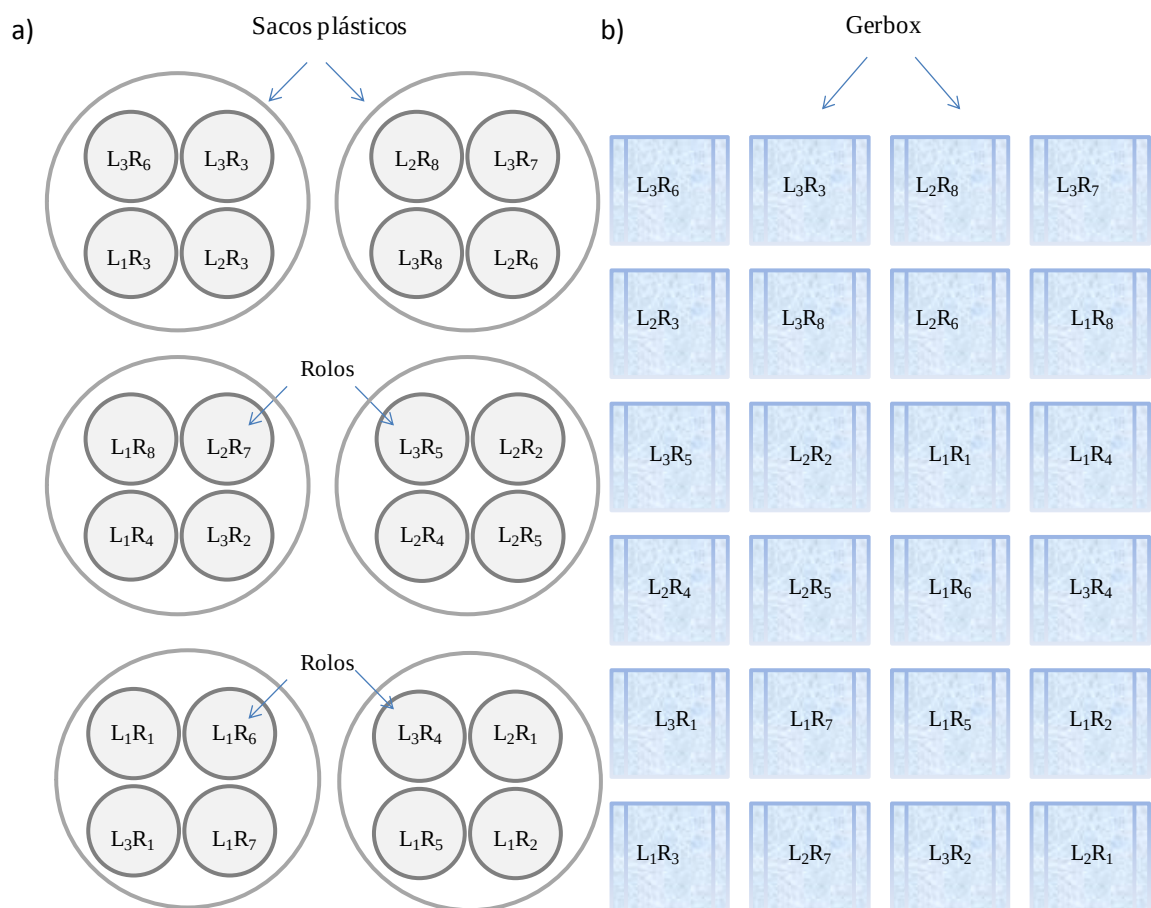


Figura 4A. Croqui do sorteio das repetições do teste de germinação realizado em três lotes de sementes semeadas em rolo de papel (a) e em caixas gerbox (b).

Tabela 1A. Variância (s_r^2, s_R^2), desvio padrão (s_r, s_R) e coeficiente de variação (CV_r, CV_R), de repetitividade e reprodutibilidade, incluindo adjetivos, para plântulas normais obtidas em testes de germinação de sementes de 50 espécies florestais brasileiras. Hachuras de coloração rosa referem-se aos menores valores de variância, desvio padrão e coeficiente de variação e hachuras de coloração azul, maiores valores. Fontes em vermelho referem-se a valores de reprodutibilidade superiores aos seus correspondentes em repetitividade.

Espécies	Plântulas normais (%)	Repetitividade			adjetivo	Reprodutibilidade			adjetivo
		s_r^2	s_r	CV_r		s_R^2	s_R	CV_R	
<i>Acacia polyphylla</i>	89.50	14.89	3.86	4.31	Ótimo	25.37	5.04	5.63	Ótimo
	62.71	48.04	6.93	11.05	Ótimo	48.34	6.95	11.09	Ótimo
	42.63	59.38	7.71	18.08	Bom	48.58	6.97	16.35	Bom
<i>Albizia hassleri*</i>	64.25	47.58	6.90	10.74	Ótimo	44.40	6.66	10.37	Ótimo
	54.39	22.84	4.78	8.79	Ótimo	18.34	4.28	7.87	Ótimo
	30.72	24.07	4.91	15.97	Bom	29.44	5.43	17.66	Bom
<i>Anadenanthera colubrina</i>	82.17	43.33	6.58	8.01	Ótimo	49.77	7.05	8.59	Ótimo
	47.83	67.56	8.22	17.18	Bom	61.13	7.82	16.35	Bom
	33.88	45.93	6.78	20.01	Bom	57.14	7.56	22.32	Bom
<i>Anadenanthera macrocarpa</i>	76.22	27.99	5.29	6.94	Ótimo	61.41	7.84	10.28	Ótimo
	46.75	60.33	7.77	16.61	Bom	69.11	8.31	17.78	Bom
	31.75	52.83	7.27	22.89	Bom	48.77	6.98	21.99	Bom
<i>Apuleia leiocarpa*</i>	86.87	35.38	5.95	6.85	Ótimo	47.10	6.86	7.90	Ótimo
	71.00	74.67	8.64	12.17	Ótimo	88.40	9.40	13.24	Ótimo
	59.63	101.60	10.08	16.90	Bom	102.84	10.14	17.01	Bom
<i>Astronium fraxinifolium</i>	81.08	30.58	5.53	6.82	Ótimo	42.80	6.54	8.07	Ótimo
	44.33	41.78	6.46	14.58	Ótimo	47.10	6.86	15.48	Bom
	36.63	48.04	6.93	18.92	Bom	45.18	6.72	18.35	Bom
<i>Cariniana estrellensis</i>	70.54	17.89	4.23	6.00	Ótimo	20.37	4.51	6.40	Ótimo
	44.68	58.85	7.67	17.17	Bom	93.82	9.69	21.68	Bom
	38.36	79.19	8.90	23.20	Bom	82.54	9.08	23.69	Bom
<i>Cariniana legalis</i>	66.71	91.43	9.56	14.33	Ótimo	109.83	10.48	15.71	Regular
	58.29	99.43	9.97	17.11	Bom	140.13	11.84	20.31	Bom
	23.42	99.83	9.99	42.67	Regular	88.42	9.40	40.16	Regular
<i>Cassia leptophylla*</i>	78.75	36.03	6.00	7.62	Ótimo	40.22	6.34	8.05	Ótimo
	53.57	97.19	9.86	18.40	Bom	92.88	9.64	17.99	Bom
	37.67	72.58	8.52	22.62	Bom	97.08	9.85	26.16	Bom
<i>Cedrela fissilis</i>	87.89	21.42	4.63	5.27	Ótimo	38.60	6.21	7.07	Ótimo
	57.50	95.57	9.78	17.00	Bom	95.01	9.75	16.95	Bom
	36.89	64.80	8.05	21.82	Bom	97.43	9.87	26.75	Bom
<i>Cedrela odorata</i>	90.11	19.41	4.41	4.89	Ótimo	21.35	4.62	5.13	Ótimo
	66.97	35.58	5.97	8.91	Ótimo	42.82	6.54	9.77	Ótimo
	49.66	41.76	6.46	13.01	Ótimo	44.59	6.68	13.45	Ótimo
<i>Ceiba speciosa</i>	75.82	74.61	8.64	11.39	Ótimo	70.51	8.40	11.07	Ótimo
	46.96	86.42	9.30	19.79	Bom	107.99	10.39	22.13	Bom
	33.86	76.76	8.76	25.88	Bom	85.13	9.23	27.25	Bom
<i>Citharexylum myrianthum</i>	58.50	95.00	9.75	16.66	Bom	82.75	9.10	15.55	Bom
	32.52	33.47	5.79	17.79	Bom	31.56	5.62	17.27	Bom
	15.13	17.76	4.21	27.87	Bom	36.37	6.03	39.87	Regular
<i>Copaifera langsdorffii</i>	92.79	15.67	3.96	4.27	Ótimo	17.07	4.13	4.45	Ótimo
	69.93	31.98	5.66	8.09	Ótimo	30.70	5.54	7.92	Ótimo
	60.60	21.02	4.59	7.57	Ótimo	16.49	4.06	6.70	Ótimo
<i>Cordia americana</i>	82.33	49.00	7.00	8.50	Ótimo	84.22	9.18	11.15	Ótimo
	53.88	139.65	11.82	21.93	Bom	167.88	12.96	24.05	Bom
	48.90	159.53	12.63	25.83	Bom	152.85	12.36	25.28	Bom

Continuação...

Espécies	Plântulas normais (%)	Repetitividade			adjetivo	Reprodutibilidade			adjetivo
		S_r^2	S_r	CV_r		S_R^2	S_R	CV_R	
<i>Cybistax antisiphilitica</i>	89.97	25.40	5.04	5.60	Ótimo	24.10	4.91	5.46	Ótimo
	55.86	51.84	7.20	12.89	Ótimo	60.46	7.78	13.92	Ótimo
	14.75	40.18	6.34	42.97	Regular	53.44	7.31	49.56	Ruim
<i>Dalbergia miscolobium</i>	72.63	71.49	8.45	11.64	Ótimo	81.26	9.01	12.41	Ótimo
	50.23	141.84	11.91	23.71	Bom	142.22	11.93	23.74	Bom
	41.00	58.56	7.65	18.66	Bom	89.72	9.47	23.10	Bom
<i>Dalbergia nigra</i>	94.42	16.50	4.06	4.30	Ótimo	14.92	3.86	4.09	Ótimo
	68.63	31.65	5.63	8.20	Ótimo	32.33	5.69	8.29	Ótimo
	59.13	51.76	7.19	12.17	Ótimo	47.57	6.90	11.66	Ótimo
<i>Enterolobium contortisiliquum*</i>	95.27	9.24	3.04	3.19	Ótimo	9.68	3.11	3.27	Ótimo
	46.09	32.86	5.73	12.44	Ótimo	47.69	6.91	14.98	Ótimo
	16.43	33.30	5.77	35.12	Regular	35.92	5.99	36.48	Regular
<i>Enterolobium maximum</i>	70.67	110.89	10.53	14.90	Ótimo	170.33	13.05	18.47	Regular
	51.25	86.81	9.32	18.18	Bom	139.70	11.82	23.06	Bom
	41.13	115.54	10.75	26.14	Bom	92.10	9.60	23.34	Bom
<i>Erythrina speciosa*</i>	82.42	49.83	7.06	8.57	Ótimo	76.92	8.77	10.64	Ótimo
	57.48	58.94	7.68	13.36	Ótimo	105.20	10.26	17.84	Bom
	40.86	43.65	6.61	16.17	Bom	42.77	6.54	16.00	Bom
<i>Gallesia integrifolia</i>	62.38	78.38	8.85	14.19	Ótimo	76.33	8.74	14.01	Ótimo
	38.29	68.76	8.29	21.66	Bom	95.43	9.77	25.51	Bom
	24.38	91.43	9.56	39.23	Regular	78.47	8.86	36.34	Regular
<i>Guazuma ulmifolia*</i>	81.28	3.68	1.92	2.36	Ótimo	2.80	1.67	2.06	Ótimo
	68.35	29.04	5.39	7.88	Ótimo	29.58	5.44	7.96	Ótimo
	49.13	34.49	5.87	11.95	Ótimo	40.56	6.37	12.96	Ótimo
<i>Handroanthus aureus</i>	47.24	24.51	4.95	10.48	Ótimo	26.32	5.13	10.86	Ótimo
	27.96	35.04	5.92	21.17	Bom	40.89	6.39	22.87	Bom
	14.92	26.17	5.12	34.29	Regular	30.57	5.53	37.06	Regular
<i>Handroanthus chrysotrichus</i>	87.74	30.29	5.50	6.27	Ótimo	30.56	5.53	6.30	Ótimo
	71.65	49.02	7.00	9.77	Ótimo	53.98	7.35	10.26	Ótimo
	47.94	36.25	6.02	12.56	Ótimo	36.93	6.08	12.68	Ótimo
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	69.17	58.00	7.62	11.01	Ótimo	54.87	7.41	10.71	Ótimo
	44.73	43.69	6.61	14.78	Ótimo	51.96	7.21	16.12	Bom
	35.78	48.63	6.97	19.49	Bom	51.28	7.16	20.02	Bom
<i>Handroanthus roseo- albus</i>	81.54	47.71	6.91	8.47	Ótimo	48.44	6.96	8.54	Ótimo
	44.65	63.51	7.97	17.85	Bom	63.37	7.96	17.83	Bom
	25.38	72.21	8.50	33.49	Regular	68.55	8.28	32.63	Regular
<i>Hymenaea courbaril*</i>	84.27	34.42	5.87	6.96	Ótimo	40.09	6.33	7.51	Ótimo
	70.00	44.89	6.70	9.57	Ótimo	67.67	8.23	11.75	Ótimo
	41.90	38.87	6.23	14.88	Ótimo	43.14	6.57	15.67	Bom
<i>Hymenaea stigonocarpa*</i>	93.30	32.47	5.70	6.11	Ótimo	49.75	7.05	7.56	Ótimo
	43.58	150.50	12.27	28.15	Bom	143.42	11.98	27.48	Bom
	28.83	77.22	8.79	30.48	Regular	95.68	9.78	33.93	Regular
<i>Jacaranda cuspidifolia</i>	83.00	12.92	3.59	4.33	Ótimo	21.92	4.68	5.64	Ótimo
	60.88	21.72	4.66	7.66	Ótimo	35.34	5.94	9.76	Ótimo
	41.69	62.32	7.89	18.93	Bom	56.63	7.53	18.05	Bom
<i>Jacaranda micrantha</i>	63.29	82.76	9.10	14.37	Ótimo	85.43	9.24	14.60	Ótimo
	42.00	25.58	5.06	12.04	Ótimo	29.78	5.46	12.99	Ótimo
	13.83	45.44	6.74	48.73	Ruim	61.95	7.87	56.90	Ruim
<i>Lafoensia pacari</i>	85.67	24.81	4.98	5.81	Ótimo	26.55	5.15	6.01	Ótimo
	68.04	62.40	7.90	11.61	Ótimo	65.02	8.06	11.85	Ótimo
	40.33	44.22	6.65	16.49	Bom	44.83	6.70	16.60	Bom
<i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	91.25	19.23	4.39	4.81	Ótimo	18.87	4.34	4.76	Ótimo
	58.13	63.48	7.97	13.71	Ótimo	63.47	7.97	13.71	Ótimo
	34.89	13.75	3.71	10.63	Ótimo	12.42	3.52	10.10	Ótimo

Continuação...

Espécies	Plântulas normais (%)	Repetitividade			adjetivo	Reprodutibilidade			adjetivo
		S_r^2	S_r	CV_r		S_R^2	S_R	CV_R	
<i>Mimosa scabrella</i> *	60.55	72.25	8.50	14.04	Ótimo	68.31	8.26	13.65	Ótimo
	46.83	68.43	8.27	17.67	Bom	77.35	8.79	18.78	Bom
	37.26	20.48	4.53	12.15	Ótimo	29.61	5.44	14.60	Ótimo
<i>Ormosia arborea</i> *	62.75	51.06	7.15	11.39	Ótimo	120.77	10.99	17.51	Regular
	47.83	76.33	8.74	18.27	Bom	80.82	8.99	18.79	Bom
	27.92	72.39	8.51	30.48	Regular	91.83	9.58	34.33	Regular
<i>Parapiptadenia rigida</i>	95.04	11.93	3.45	3.63	Ótimo	12.76	3.57	3.76	Ótimo
	58.63	115.65	10.75	18.34	Bom	108.33	10.41	17.75	Bom
	49.50	99.11	9.96	20.11	Bom	82.53	9.08	18.35	Bom
<i>Parkia pendula</i> *	88.88	38.65	6.22	7.00	Ótimo	59.03	7.68	8.65	Ótimo
	50.63	117.46	10.84	21.41	Bom	111.16	10.54	20.83	Bom
	19.38	29.76	5.46	28.16	Bom	70.12	8.37	43.22	Regular
<i>Peltogyne confertiflora</i>	96.00	3.29	1.81	1.89	Ótimo	4.18	2.05	2.13	Ótimo
	60.79	56.43	7.51	12.36	Ótimo	48.23	6.94	11.42	Ótimo
	37.61	31.70	5.63	14.97	Ótimo	31.32	5.60	14.88	Ótimo
<i>Peltophorum dubium</i> *	75.06	24.29	4.93	6.57	Ótimo	40.89	6.39	8.52	Ótimo
	54.13	37.50	6.12	11.31	Ótimo	50.96	7.14	13.19	Ótimo
	31.63	34.53	5.88	18.58	Bom	37.80	6.15	19.44	Bom
<i>Platymenia reticulata</i> *	88.96	28.38	5.33	5.99	Ótimo	40.99	6.40	7.20	Ótimo
	56.58	104.83	10.24	18.10	Bom	114.67	10.71	18.92	Bom
	35.75	53.47	7.31	20.45	Bom	55.20	7.43	20.78	Bom
<i>Pseudobombax tomentosum</i>	87.79	20.69	4.55	5.18	Ótimo	30.53	5.53	6.29	Ótimo
	53.11	50.61	7.11	13.40	Ótimo	63.79	7.99	15.04	Bom
	19.61	44.32	6.66	33.95	Regular	58.24	7.63	38.92	Regular
<i>Pterogyne nitens</i> *	71.17	50.56	7.11	9.99	Ótimo	60.48	7.78	10.93	Ótimo
	51.74	20.75	4.55	8.80	Ótimo	42.91	6.55	12.66	Ótimo
	35.79	23.99	4.90	13.68	Ótimo	23.00	4.80	13.40	Ótimo
<i>Qualea grandiflora</i>	85.88	24.15	4.91	5.72	Ótimo	26.01	5.10	5.94	Ótimo
	44.38	104.04	10.20	22.99	Bom	136.38	11.68	26.32	Bom
	27.08	42.39	6.51	24.04	Bom	50.33	7.09	26.20	Bom
<i>Schinus terebinthifolius</i>	76.43	65.71	8.11	10.61	Ótimo	74.24	8.62	11.27	Ótimo
	35.11	34.85	5.90	16.81	Bom	35.34	5.94	16.93	Bom
	29.71	50.95	7.14	24.02	Bom	43.79	6.62	22.27	Bom
<i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> *	97.72	3.30	1.82	1.86	Ótimo	2.54	1.59	1.63	Ótimo
	76.86	35.52	5.96	7.75	Ótimo	57.04	7.55	9.83	Ótimo
	65.68	65.85	8.11	12.35	Ótimo	70.02	8.37	12.74	Ótimo
<i>Senna macranthera</i> *	69.78	62.95	7.93	11.37	Ótimo	71.02	8.43	12.08	Ótimo
	53.96	25.70	5.07	9.39	Ótimo	30.33	5.51	10.21	Ótimo
	32.23	65.82	8.11	25.17	Bom	57.81	7.60	23.59	Bom
<i>Senna multijuga</i> *	89.65	12.24	3.50	3.90	Ótimo	13.33	3.65	4.07	Ótimo
	56.75	43.94	6.63	11.68	Ótimo	44.73	6.69	11.79	Ótimo
	42.79	42.15	6.49	15.17	Bom	44.88	6.70	15.65	Bom
<i>Stryphnodendron barbadetimam</i> *	79.13	20.15	4.49	5.67	Ótimo	26.91	5.19	6.56	Ótimo
	64.79	39.21	6.26	9.66	Ótimo	35.92	5.99	9.25	Ótimo
	40.46	45.65	6.76	16.70	Bom	47.15	6.87	16.97	Bom
<i>Stryphnodendron polyphyllum</i> *	81.48	35.33	5.94	7.30	Ótimo	30.96	5.56	6.83	Ótimo
	62.17	60.33	7.77	12.49	Ótimo	61.82	7.86	12.65	Ótimo
	32.58	47.81	6.91	21.22	Bom	44.62	6.68	20.50	Bom
<i>Zeyheria tuberculosa</i>	82.65	35.79	5.98	7.24	Ótimo	37.56	6.13	7.41	Ótimo
	65.79	55.54	7.45	11.33	Ótimo	65.97	8.12	12.35	Ótimo
	37.92	57.75	7.60	20.04	Bom	49.43	7.03	18.54	Bom

* Espécies com sementes com dormência tegumentar.

Tabela 2A. Estatística k de Mandel para a característica plântulas normais de testes de germinação (G) de sementes de 50 espécies florestais brasileiras. Valores hachurados indicam valores de h acima dos críticos nas significâncias estabelecidas (0.05 e 0.01).

Espécies	G (%)	Laboratório																	Sig	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	0,01	0,05
<i>Acacia polyphylla</i>	89.50			1.22	0.34		1.07	0.68				0.84			1.44				1.77	1.54
	62.71			1.55	0.43		0.64	1.57				0.38			0.62					
	42.63			0.95	0.98		1.37	1.34				0.63			0.26					
<i>Albizia Hassleri*</i>	64.25	1.47	0.39			0.90	0.88	0.90		1.20	0.77	1.12							1.81	1.56
	54.39	1.60	0.65			1.01	1.40	0.46		0.77	0.59	0.94								
	30.72	1.07	1.31			0.85	1.30	0.87		1.25	0.51	0.36								
<i>Anadenanthera colubrina</i>	82.17	0.50	0.64		1.41	1.61		0.70			0.52								1.77	1.54
	47.83	0.34	0.61		1.14	1.26		1.37			0.86									
	33.88	0.39	1.44		1.35	1.15		0.76			0.28									
<i>Anadenanthera macrocarpa</i>	76.22		0.79		1.11		0.26	0.65		1.34	0.75	1.29			1.28				1.81	1.56
	46.75		0.70		1.38		0.61	0.76		1.29	1.19	0.64			1.08					
	31.75		1.09		0.53		0.65	0.65		1.17	0.94	1.13			1.46					
<i>Apuleia Leiocarpa*</i>	86.87			0.73			1.41	1.57			0.34	0.36	0.86						1.77	1.54
	71.00			0.61			0.78	1.34			0.54	0.67	1.57							
	59.63			1.49			0.48	1.13			0.65	0.58	1.23							
<i>Astronium fraxinifolium</i>	81.08	1.34	0.93				1.22			0.98	0.72	0.59							1.77	1.54
	44.33	1.35	0.99				0.67			1.21	1.07	0.37								
	36.63	0.89	0.60				1.02			1.68	0.75	0.65								
<i>Cariniana estrellensis</i>	70.54	1.50		1.01			1.27	0.34		0.91	0.76				0.76				1.79	1.55
	44.68	0.62		0.98			0.81	1.35		1.57	0.70				0.45					
	38.36	1.39		1.27			0.58	0.93		1.22	0.19				0.85					
<i>Cariniana legalis</i>	66.71		0.86		1.12		1.23			1.10	0.83						0.76		1.77	1.54
	58.29		1.30		0.76		1.00			1.12	1.01						0.70			
	23.42		1.08		0.46		1.11			0.97	1.31						0.86			
<i>Cassia leptophylla*</i>	78.75	0.84					1.63			1.13	0.36	0.70		0.87					1.77	1.54
	53.57	0.89					1.76			0.77	0.49	0.61		0.95						
	37.67	0.32					1.34			1.26	0.94	1.17		0.50						
<i>Cedrela fissilis</i>	87.89	0.52	0.47		1.12		1.12	1.20		1.35		0.86							1.79	1.55
	57.50	0.93	0.39		0.68		1.34	1.58		1.08		0.27								
	36.89	0.75	1.09		0.82		0.74	1.03		1.38		1.03								
<i>Cedrela odorata</i>	90.11	1.07	0.30	0.48	1.29		1.32	0.54		1.65		0.90	0.54						1.82	1.57
	66.97	0.50	1.14	0.43	0.78		1.46	1.42		0.80		1.07	0.84							
	49.66	1.41	1.31	1.01	0.39		0.43	1.36		0.26		1.01	1.01							
<i>Ceiba speciosa</i>	75.82	0.93			0.51	0.51				1.09	1.42	1.26		0.90					1.79	1.55
	46.96	0.63			0.80	0.90				1.54	1.03	1.22		0.48						
	33.86	0.72			0.97	0.40				1.24	0.91	1.36		1.09						
<i>Citharexylum myrianthum</i>	58.50				0.82		0.61			0.90	0.73		1.40		1.29				1.77	1.54
	32.52				0.72		0.91			1.03	1.36		1.28		0.34					
	15.13				0.74		0.68			0.39	0.43		1.62		1.43					

Continuação...

Espécies	G (%)	Laboratório																	Sig	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	0,01	0,05
<i>Copaifera langsdorffii</i>	92.79	1.09	0.60		0.99		0.32	1.03			1.14						1.42		1.79	1.55
	69.93	1.54	0.57		1.13		0.74	0.28			0.71						1.38			
	60.60	1.34	0.44		1.70		1.04	0.48			0.48						0.76			
<i>Cordia americana</i>	82.33				1.43	0.91	0.80	0.76		0.78	1.14								1.77	1.54
	53.88				1.20	0.63	0.79	1.00		1.05	1.20									
	48.90				1.29	0.74	0.49	0.97		1.18	1.11									
<i>Cyristax antisiphilitica</i>	89.97	1.12	0.70			0.68	0.94	1.30	0.83	1.75	0.33	0.58							1.82	1.57
	55.86	1.07	1.03			1.26	0.92	1.52	0.86	1.03	0.29	0.40								
	14.75	0.95	1.32			1.01	1.55	0.87	0.69	0.89	0.70	0.64								
<i>Dalbergia miscolobium</i>	72.63	1.14	1.36		0.87		0.84			0.65		0.99							1.77	1.54
	50.23	0.92	0.99		1.13		0.86			1.26		0.75								
	41.00	0.97	1.27		0.80		0.92			1.29		0.55								
<i>Dalbergia nigra</i>	94.42					0.13	1.32		0.75	1.25	1.14						0.89		1.77	1.54
	68.63					0.79	1.07		0.93	0.92	1.07						1.17			
	59.13					0.51	1.23		1.48	0.77	1.14						0.40			
<i>Enterolobium contortisiliquum*</i>	95.27	1.28	0.85		0.66	1.63	0.50	0.28	0.85	0.63	0.46		1.18	1.59					1.85	1.58
	46.09	0.64	1.24		0.44	1.00	0.64	1.32	1.15	1.62	0.68		0.52	1.01						
	16.43	1.84	1.02		1.48	0.39	0.69	0.67	1.16	0.67	0.57		1.00	0.39						
<i>Enterolobium maximum</i>	70.67		1.16				1.27	1.10				0.66					0.86	0.79	1.77	1.54
	51.25		0.92				1.11	1.25				0.97					1.01	0.64		
	41.13		0.89				1.04	0.71				0.88					1.43	0.89		
<i>Erythrina speciosa*</i>	82.42					0.80	1.26		1.08	1.00	0.19						1.25		1.77	1.54
	57.48					1.56	0.91		0.89	1.01	0.60						0.75			
	40.86					0.81	0.73		0.83	0.37	1.95						0.40			
<i>Gallesia integrifolia</i>	62.38	0.94	1.16		1.11		0.81	0.43			1.30								1.77	1.54
	38.29	0.72	1.30		0.61		1.20	0.75			1.19									
	24.38	0.98	1.11		0.91		1.03	0.62			1.23									
<i>Guazuma ulmifolia*</i>	81.28			1.00	0.66		0.76				1.33	1.20	0.90						1.77	1.54
	68.35			0.93	0.87		1.11				1.14	0.94	0.98							
	49.13			1.01	0.29		0.51				1.63	0.58	1.28							
<i>Handroanthus aureus</i>	47.24	1.51					0.68	0.59			1.46				0.71			0.52	1.77	1.54
	27.96	0.55					1.55	0.64			1.12				0.70			1.08		
	14.92	1.04					0.84	0.69			1.21				1.21			0.88		
<i>Handroanthus chrysotrichus</i>	87.74	0.92	0.50	0.82	1.30	1.23		0.70				0.60				1.48			1.81	1.56
	71.65	0.83	0.87	0.65	0.61	1.57		0.98				0.82				1.28				
	47.94	0.30	0.82	1.85	0.47	0.64		1.32				1.18				0.21				
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	69.17	1.08				0.75		0.91	0.56		0.61						1.66		1.77	1.54
	44.73	0.25				1.02		0.51	1.21		0.58						1.68			
	35.78	0.50				1.14		0.90	1.70		0.66						0.58			
<i>Handroanthus roseo-albus</i>	81.54	1.10		0.52			0.95	1.08		0.70	1.40								1.77	1.54
	44.65	0.97		0.81			0.74	1.16		0.53	1.49									
	25.38	1.21		0.55			0.99	0.92		0.83	1.32									

Continuação...

Espécies	G (%)	Laboratório																	Sig	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	0,01	0,05
<i>Hymenaea courbaril*</i>	84.27	1.61	1.30		0.71	0.74									0.18		0.80		1.77	1.54
	70.00	1.10	1.29		0.64	0.90									1.00		0.94			
	41.90	1.09	0.82		0.72	1.04									0.93		1.29			
<i>Hymenaea stigonocarpa*</i>	93.30	1.42	0.39				1.71	0.50				0.24			0.78				1.77	1.54
	43.58	0.92	1.31				1.06	0.69				1.31			0.39					
	28.83	0.32	1.31				0.64	1.48				0.43			1.19					
<i>Jacaranda cuspidifolia</i>	83.00	0.66	0.67	0.55				0.62		1.48	1.00					1.49			1.79	1.55
	60.88	0.32	0.86	0.58				0.97		0.85	0.28					2.02				
	41.69	1.41	1.02	0.86				1.40		0.91	0.48					0.46				
<i>Jacaranda micrantha</i>	63.29		0.94		0.98	1.24	1.20			0.97	0.51								1.77	1.54
	42.00		1.46		0.86	0.80	0.58			1.22	0.82									
	13.83		1.05		0.31	1.36	0.45			1.46	0.77									
<i>Lafoensia pacari</i>	85.67		0.81					0.68		1.16	0.57		1.41		1.11				1.77	1.54
	68.04		0.68					0.12		0.71	1.66		1.45		0.42					
	40.33		0.68					0.30		1.25	1.37		1.33		0.51					
<i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	91.25	1.54	0.98	0.92	0.92		0.69			0.62	0.63			1.31					1.81	1.56
	58.13	1.43	0.55	0.90	1.13		0.88			0.60	0.80			1.33						
	34.89	1.76	0.82	0.79	1.26		0.83			0.00	0.66			0.95						
<i>Mimosa scabrella*</i>	60.55	0.57	0.93		1.35	0.26	1.31	1.31		1.41	0.93	0.72			0.32				1.81	1.56
	46.83	1.24	1.07		1.29	1.22	0.34	1.21		1.20	0.41	0.77			0.62					
	37.26	0.84	1.10		1.42	0.98	0.68	1.25		1.14	0.64	0.74			0.91					
<i>Ormosia arborea*</i>	62.75				0.41	0.45	1.08	0.59				1.04				1.74			1.77	1.54
	47.83				1.13	0.76	0.82	1.67				0.42				0.71				
	27.92				1.26	0.82	1.03	0.62				1.32				0.74				
<i>Parapiptadenia rigida</i>	95.04		1.24			1.51					0.61	0.62		1.08	0.52				1.77	1.54
	58.63		1.51			1.36					0.82	0.53		0.63	0.72					
	49.50		1.45			0.75					0.83	0.29		0.82	1.38					
<i>Parkia pendula*</i>	88.88				0.66	1.05				1.01	0.24				1.48	1.09			1.77	1.54
	50.63				0.60	0.78				1.10	0.81				1.06	1.43				
	19.38				0.48	1.09				1.09	0.65				1.21	1.21				
<i>Peltogyne confertiflora</i>	96.00	0.61	0.94	1.60			1.33	1.02								0.37	0.50		1.79	1.55
	60.79	0.70	1.20	1.29			0.91	0.85								1.25	0.55			
	37.61	0.00	0.62	0.54			0.62	1.65								1.29	1.25			
<i>Peltophorum dubium*</i>	75.06	0.74	1.36				1.23			0.84	1.05	0.97	0.74			0.90			1.81	1.56
	54.13	1.37	0.76				0.38			0.63	0.48	1.26	1.08			1.42				
	31.63	0.39	1.07				1.71			0.84	1.25	0.47	0.84			0.77				
<i>Prlatymenia eticulata*</i>	88.96		0.65	1.01	1.25					1.54	0.56	0.56							1.77	1.54
	56.58		1.20	1.03	1.51					0.96	0.49	0.26								
	35.75		1.17	1.51	0.64					1.03	0.89	0.28								
<i>Pseudobombax tomentosum</i>	87.79	0.87	0.83	0.57			1.74				0.31	1.31		0.62					1.79	1.55
	53.11	0.74	0.96	0.83			1.76				0.46	0.48		1.15						
	19.61	1.52	1.44	0.80			0.57				0.58	1.13		0.22						

Continuação...

Espécies	G (%)	Laboratório																	Sig	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	0,01	0,05
<i>Pterogyne nitens</i> *	71.17		1.54		0.90			0.88		0.71	0.91			0.84					1.77	1.54
	51.74		1.08		1.07			0.89		0.54	1.25			1.02						
	35.79		0.87		0.67			1.05		1.01	1.01			1.28						
<i>Qualea grandiflora</i>	85.88	1.44			0.52	1.31	0.75			0.46	1.07								1.77	1.54
	44.38	1.51			0.84	1.51	0.34			0.28	0.75									
	27.08	0.53			0.66	1.52	0.84			1.34	0.67									
<i>Schinus terebinthifolius</i>	76.43		1.32			0.89	0.87	0.79		1.15		0.65					1.15		1.79	1.55
	35.11		0.65			0.85	0.96	1.38		0.75		0.29					1.54			
	29.71		1.07			1.45	0.71	1.43		0.91		0.24					0.55			
<i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> *	97.72	1.04			1.23	1.05	0.99	0.76		1.07		0.76							1.79	1.55
	76.86	0.69			1.00	0.92	0.87	1.51		0.96		0.84								
	65.68	0.57			0.81	1.32	1.43	0.93		0.66		0.97								
<i>Senna macranthera</i> *	69.78	0.83	1.44	1.13	0.99			1.15		0.43		1.08	0.54						1.81	1.56
	53.96	1.25	0.93	1.56	0.19			1.16		0.39		1.12	0.59							
	32.23	1.28	1.07	0.86	0.39			1.28		0.48		1.26	0.94							
<i>Senna multijuga</i> *	89.65	0.99	1.05				0.88	1.19		0.91	0.94								1.77	1.54
	56.75	1.14	0.39				1.27	1.44		0.25	0.91									
	42.79	1.46	0.32				1.22	1.17		0.83	0.47									
<i>Stryphnodendron barbadetimam</i> *	79.13				0.74		0.87	0.92		1.01		1.09						1.28	1.77	1.54
	64.79				1.31		0.61	1.20		1.09		0.73						0.87		
	40.46				0.99		1.05	1.38		0.92		0.80						0.73		
<i>Stryphnodendron polyphyllum</i> *	81.48	1.01		0.96				1.28			0.88	1.22			0.41				1.77	1.54
	62.17	1.12		1.76				0.68			0.46	0.80			0.57					
	32.58	0.69		0.91				1.62			0.51	1.24			0.52					
<i>Zeyheria tuberculosa</i>	82.65	0.57			1.55		1.04				0.51				0.69		1.20		1.77	1.54
	65.79	1.18			0.71		0.92				0.98				1.23		0.89			
	37.92	1.47			0.72		0.87				0.56				1.32		0.71			

* Espécies com sementes com dormência tegumentar.

Tabela 3A. Estatística h de Mandel para a característica plântulas normais (G) de testes de germinação de sementes de 50 espécies florestais brasileiras. Valores hachurados indicam valores de h acima do críticos nas significância estabelecidas (0.05 e 0.01).

Espécies	G (%)	Laboratório																	Sig	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	0.01	0.05
<i>Acacia polyphylla</i>	89.50	-	-	0.68	0.19	-	0.81	0.56	-	-	-	1.55	-	-	1.06	-	-	-	1.87	1.66
	62.71	-	-	0.06	1.08	-	0.34	-1.2	-	-	-	1.29	-	-	0.77	-	-	-		
	42.63	-	-	-0.4	1.59	-	0.13	1.46	-	-	-	0.4	-	-	0	-	-	-		
<i>Albizia hassleri*</i>	64.25	0.66	1.42	-	-	1.25	0.21	0.82	-	0.38	0.75	1.25	-	-	-	-	-	-	2.06	1.75
	54.39	0.22	1.14	-	-	2.04	0.23	0.69	-	0.46	0.46	0.73	-	-	-	-	-	-		
	30.72	0.25	1.61	-	-	0.08	0.08	0.42	-	0.59	1.95	0.08	-	-	-	-	-	-		
<i>Anadenanthera colubrina</i>	82.17	1.13	0.45	-	1.39	1.02	-	0.66	-	-	0.34	-	-	-	-	-	-	-	1.87	1.66
	47.83	1.18	0.88	-	0.67	0.36	-	1.44	-	-	0.41	-	-	-	-	-	-	-		
	33.88	1.16	0.76	-	1.16	1.12	-	0.64	-	-	0.20	-	-	-	-	-	-	-		
<i>Anadenanthera macrocarpa</i>	76.22	-	0.41	-	0.08	-	1.74	0.25	-	1.57	0.41	0.74	-	-	0.74	-	-	-	2.06	1.75
	46.75	-	0.67	-	0.56	-	1.18	1.38	-	0.77	1.28	0.77	-	-	0.36	-	-	-		
	31.75	-	0.44	-	0.98	-	0.04	0.12	-	0.83	1.73	1.46	-	-	0.19	-	-	-		
<i>Apuleia leiocarpa*</i>	86.87	-	-	0.65	-	-	0.07	0.90	-	-	1.19	0.17	1.53	-	-	-	-	-	1.87	1.66
	71.00	-	-	0.26	-	-	1.23	1.14	-	-	1.05	0.97	0.26	-	-	-	-	-		
	59.63	-	-	0.82	-	-	1.13	0.31	-	-	1.69	0.25	0.21	-	-	-	-	-		
<i>Astronium fraxinifolium</i>	81.08	1.36	0.95	-	-	-	0.21	-	-	0.62	0.95	0.95	-	-	-	-	-	-	1.87	1.66
	44.33	1.68	0.04	-	-	-	0.08	-	-	0.08	0.08	1.47	-	-	-	-	-	-		
	36.63	0.69	0.19	-	-	-	0.69	-	-	0.54	1.78	0.75	-	-	-	-	-	-		
<i>Cariniana estrellensis</i>	70.54	0.34	-	1.48	-	-	0.49	1.63	-	0.55	0.34	-	-	-	0.59	-	-	-	1.98	1.71
	44.68	0.97	-	0.73	-	-	0.90	0.52	-	1.30	1.22	-	-	-	0.52	-	-	-		
	38.36	0.16	-	1.91	-	-	0.03	0.92	-	0.54	0.92	-	-	-	0.59	-	-	-		
<i>Cariniana legalis</i>	66.71	-	0.57	-	1.65	-	0.16	-	-	0.66	0.93	-	-	-	-	-	0.79	-	1.87	1.66
	58.29	-	1.70	-	1.26	-	0.46	-	-	0.03	0.37	-	-	-	-	-	0.41	-		
	23.42	-	0.89	-	1.84	-	0.11	-	-	0.28	0.30	-	-	-	-	-	0.81	-		
<i>Cassia leptophylla*</i>	78.75	0.05	-	-	-	-	0.59	-	-	0.82	0.47	0.01	-	1.94	-	-	-	-	1.87	1.66
	53.57	0.50	-	-	-	-	0.79	-	-	1.80	0.23	0.77	-	0.49	-	-	-	-		
	37.67	1.45	-	-	-	-	0.76	-	-	1.03	0.55	0.96	-	0.21	-	-	-	-		
<i>Cedrela fissilis</i>	87.89	0.84	1.34	-	1.37	-	0.52	0.70	-	0.09	-	0.91	-	-	-	-	-	-	1.98	1.71
	57.50	0.72	0.83	-	0.31	-	1.45	1.35	-	0.31	-	0.83	-	-	-	-	-	-		
	36.89	1.50	0.23	-	0.08	-	0.55	1.45	-	0.34	-	1.08	-	-	-	-	-	-		
<i>Cedrela odorata</i>	90.11	0.33	1.15	0.27	0.88	-	1.46	0.91	-	0.36	-	0.77	1.43	-	-	-	-	-	2.13	1.78
	66.97	0.13	0.62	0.01	0.44	-	0.50	0.74	-	2.00	-	0.12	1.61	-	-	-	-	-		
	49.66	0.53	1.19	0.15	0.92	-	0.23	1.96	-	1.11	-	0.15	0.53	-	-	-	-	-		
<i>Ceiba speciosa</i>	75.82	0.79	-	-	0.07	0.31	-	-	-	0.64	0.83	1.21	-	1.65	-	-	-	-	1.98	1.71
	46.96	0.46	-	-	0.42	1.53	-	-	-	1.29	1.21	0.31	-	0.22	-	-	-	-		
	33.86	0.31	-	-	0.02	1.49	-	-	-	1.53	1.00	0.18	-	0.57	-	-	-	-		
<i>Citharexylum myrianthum</i>	58.50	-	-	-	1.22	-	1.28	-	-	0.91	0.44	-	0.65	-	0.65	-	-	-	1.87	1.66
	32.52	-	-	-	1.75	-	0.35	-	-	0.92	0.61	-	0.54	-	0.54	-	-	-		
	15.13	-	-	-	0.59	-	1.18	-	-	1.18	0.88	-	0.74	-	0.74	-	-	-		

Continuação...

Espécies	G (%)	Laboratório																	Sig	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	0.01	0.05
<i>Copaifera langsdorffii</i>	92.79	0.25	-	1.64	-	0.59	-	0.25	1.65	-	-	0.17	-	-	-	-	0.25	-	1.98	1.71
	69.93	-	0.94	0.31	-	1.26	-	0.82	1.57	-	-	0.31	-	-	-	-	0.44	-		
	60.60	-	0.77	0.56	-	0.34	-	0.99	1.61	-	-	1.18	-	-	-	-	0.12	-		
<i>Cordia americana</i>	82.33	-	-	-	-	0.16	0.89	1.15	-	1.54	-	0.30	0.63	-	-	-	-	-	1.87	1.66
	53.88	-	-	-	-	0.27	0.90	1.27	-	0.55	-	0.49	1.40	-	-	-	-	-		
	48.90	-	-	-	-	1.64	0.24	1.48	0.17	-	-	0.12	0.12	-	-	-	-	-		
<i>Cyristax antisiphilitica</i>	89.97	-	0.57	1.61	-	-	0.26	1.09	0.67	0.88	0.05	1.61	0.21	-	-	-	-	-	2.13	1.78
	55.86	-	1.15	1.11	-	-	0.89	0.08	1.26	0.68	0.68	0.51	1.37	-	-	-	-	-		
	14.75	-	0.36	0.57	-	-	1.88	0.57	1.72	0.47	0.27	0.33	0.58	-	-	-	-	-		
<i>Dalbergia miscolobium</i>	72.63	1.11	0.30	-	-	0.59	-	1.55	-	-	0.52	-	0.81	-	-	-	-	-	1.87	1.66
	50.23	-	0.21	0.21	-	1.05	-	1.79	-	-	0.04	-	0.78	-	-	-	-	-		
	41.00	1.50	-	0.21	-	0.26	-	1.07	-	-	1.07	-	0.59	-	-	-	-	-		
<i>Dalbergia nigra</i>	94.42	-	-	-	-	-	-	0.63	0.38	-	1.65	-	0.89	0.80	-	-	-	0.55	1.87	1.66
	68.63	-	-	-	-	-	-	0.90	0.13	-	0.64	-	1.41	0.81	-	-	-	1.07		
	59.13	-	-	-	-	-	-	0.68	1.20	-	0.89	0.57	0.99	-	-	-	-	0.99		
<i>Enterolobium contortisiliquum*</i>	95.27	0.78	-	1.34	-	1.83	0.47	0.70	0.47	-	1.34	0.73	0.89	-	0.28	0.32	-	-	2.22	1.82
	46.09	-	0.42	1.67	-	0.10	0.31	1.35	-	0.73	0.73	0.63	1.77	-	0.11	-	0.70	-		
	16.43	-	1.01	1.11	-	0.76	0.13	0.86	0.72	0.13	0.47	0.27	-	0.76	2.24	-	-	-		
<i>Enterolobium maximum</i>	70.67	-	0.16	-	-	-	-	1.98	0.80	-	-	-	0.48	-	-	-	0.16	0.38	1.87	1.66
	51.25	-	0.23	-	-	-	-	0.78	0.72	-	-	-	1.45	-	-	-	0.14	1.30		
	41.13	-	0.50	-	-	-	-	1.59	1.14	-	-	-	0.23	-	-	-	0.50	0.79		
<i>Erythrina speciosa*</i>	82.42	-	-	-	-	-	-	0.86	0.17	-	1.01	0.64	1.05	-	-	-	1.30	-	1.87	1.66
	57.48	-	-	-	-	-	-	0.99	1.36	-	0.93	0.12	0.99	-	-	-	0.56	-		
	40.86	-	-	-	-	-	-	0.78	0.57	-	0.89	1.10	0.78	-	-	-	1.21	-		
<i>Gallesia integrifolia</i>	62.38	0.20	-	1.39	-	1.63	-	0.60	0.04	-	-	0.12	-	-	-	-	-	-	1.87	1.66
	38.29	1.31	-	0.91	-	1.01	-	0.57	0.18	-	-	1.03	-	-	-	-	-	-		
	24.38	0.75	0.81	-	-	1.22	-	1.40	0.51	-	-	0.27	-	-	-	-	-	-		
<i>Guazuma ulmifolia*</i>	81.28	-	-	-	1.34	0.95	-	0.10	-	-	-	1.01	1.08	0.36	-	-	-	-	1.87	1.66
	68.35	-	-	-	0.21	1.12	-	0.55	-	-	-	0.79	1.60	0.45	-	-	-	-		
	49.13	-	-	-	1.33	0.67	-	1.61	-	-	-	0.02	0.02	-	0.44	-	-	-		
<i>Handroanthus aureus</i>	47.24	0.18	-	-	-	-	-	0.03	0.48	-	-	0.33	-	-	-	0.93	-	-	1.87	1.66
	27.96	-	0.51	-	-	-	-	0.12	0.90	-	-	0.90	-	-	-	1.45	-	0.99		
	14.92	-	1.09	-	-	-	-	0.18	0.10	-	-	1.30	-	-	-	0.96	-	1.09		
<i>Handroanthus chrysotrichus</i>	87.74	-	0.16	0.78	1.26	0.16	0.01	-	0.84	-	-	-	0.64	-	-	-	1.91	-	2.06	1.75
	71.65	-	0.15	0.43	0.61	0.61	1.57	-	0.03	-	-	-	0.83	-	-	-	1.70	-		
	47.94	-	0.59	0.76	0.65	2.06	0.47	-	0.59	-	-	-	0.41	-	-	-	0.82	-		
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	69.17	-	1.11	-	-	-	-	1.37	-	1.10	0.29	-	0.51	-	-	-	0.58	-	1.87	1.66
	44.73	-	1.53	-	-	-	-	0.75	0.37	1.26	-	-	0.45	-	-	-	0.39	-		
	35.78	-	1.68	-	-	-	-	0.99	-	0.54	0.64	-	0.10	-	-	-	0.69	-		
<i>Handroanthus roseo-albus</i>	81.54	-	0.63	-	0.49	-	-	1.15	1.35	-	1.09	-	0.16	-	-	-	-	-	1.87	1.66
	44.65	-	0.46	-	1.15	-	-	0.46	0.05	-	1.77	0.35	-	-	-	-	-	-		
	25.38	-	1.00	-	1.14	-	-	0.41	0.69	-	1.39	0.36	-	-	-	-	-	-		

Continuação...

Espécies	G (%)	Laboratório																	Sig	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	0.01	0.05
<i>Hymenaea courbaril</i> *	84.27	0.71	1.05	-	1.46	0.70	-	-	-	-	-	-	-	-	0.36	-	0.79	-	1.87	1.66
	70.00	0.17	0.69	-	0.69	1.89	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	-	0.69	-		
	41.90	1.50	0.24	-	0.32	1.53	-	-	-	-	-	-	-	-	0.52	-	0.01	-		
<i>Hymenaea stigonocarpa</i> *	93.30	1.33	1.19	-	-	-	0.71	0.54	-	-	-	0.11	-	-	1.00	-	-	-	1.87	1.66
	43.58	1.07	0.26	-	-	-	1.07	1.19	-	-	-	0.11	-	-	1.10	-	-	-		
	28.83	1.06	0.07	-	-	-	0.86	0.63	-	-	-	0.27	-	-	1.63	-	-	-		
<i>Jacaranda cuspidifolia</i>	83.00	0.42	0.75	0.27	-	-	-	0.56	-	0.75	1.34	-	-	-	-	1.59	-	-	1.98	1.71
	60.88	1.24	0.07	1.38	-	-	-	1.02	-	0.62	0.64	-	-	-	-	0.84	-	-		
	41.69	1.17	0.31	0.65	-	-	-	1.56	-	0.26	1.24	-	-	-	-	0.26	-	-		
<i>Jacaranda micrantha</i>	63.29	-	0.73	-	0.25	1.17	1.36	-	-	0.73	0.82	-	-	-	-	-	-	-	1.87	1.66
	42.00	-	0.24	-	1.34	0.98	0.79	-	-	1.25	0.03	-	-	-	-	-	-	-		
	13.83	-	1.72	-	0.15	0.46	0.58	-	-	0.66	1.03	-	-	-	-	-	-	-		
<i>Lafoensia pacari</i>	85.67	-	1.66	-	-	-	-	1.12	-	0.63	0.54	-	0.10	-	0.54	-	-	-	1.87	1.66
	68.04	-	1.28	-	-	-	-	0.78	-	0.50	1.19	-	0.40	-	0.96	-	-	-		
	40.33	-	0.68	-	-	-	-	1.09	-	1.66	0.30	-	0.30	-	0.65	-	-	-		
<i>Mimosa caesalpinifolia</i>	91.25	0.10	1.31	0.52	0.74	-	1.37	-	-	1.36	0.43	-	-	0.74	-	-	-	-	2.06	1.75
	58.13	0.47	0.66	2.17	0.16	-	0.16	-	-	1.22	0.28	-	-	0.16	-	-	-	-		
	34.89	0.36	0.95	1.07	0.83	-	1.30	-	-	1.30	0.24	-	-	0.83	-	-	-	-		
<i>Mimosa scabrella</i> *	60.55	0.51	0.41	-	0.51	0.60	0.02	0.32	-	1.44	0.41	0.75	-	-	2.24	-	-	-	2.18	1.8
	46.83	0.13	0.13	-	0.65	0.82	1.41	1.53	-	0.16	1.31	0.11	-	-	1.34	-	-	-		
	37.26	0.68	0.68	-	1.61	0.68	0.55	1.58	-	0.52	0.98	0.98	-	-	0.12	-	-	-		
<i>Ormosia arborea</i> *	62.75	-	-	-	0.50	0.18	0.26	1.70	-	-	-	1.24	-	-	-	0.48	-	-	1.87	1.66
	47.83	-	-	-	0.34	1.82	0.27	0.03	-	-	-	0.76	-	-	-	0.96	-	-		
	27.92	-	-	-	0.03	1.02	0.63	1.02	-	-	-	0.74	-	-	-	1.40	-	-		
<i>Parapiptadenia rigida</i>	95.04	-	0.35	-	-	0.17	-	-	-	0.35	0.87	-	1.57	-	1.22	-	-	-	1.87	1.66
	58.63	-	0.56	-	-	0.89	-	-	-	1.00	1.26	-	0.30	-	1.10	-	-	-		
	49.50	-	0.28	-	-	1.00	-	-	-	1.43	1.26	-	0.53	-	0.02	-	-	-		
<i>Parkia pendula</i> *	88.88	-	-	-	0.05	0.71	-	-	-	0.42	0.85	-	-	-	0.02	1.90	-	-	1.87	1.66
	50.63	-	-	-	0.29	0.91	-	-	-	0.49	1.85	-	-	-	0.65	0.08	-	-		
	19.38	-	-	-	1.76	0.30	-	-	-	0.43	1.12	-	-	-	0.62	0.11	-	-		
<i>Peltogyne confertiflora</i>	96.00	1.42	0.51	0.77	-	-	0.14	1.13	-	-	-	-	-	-	-	1.04	0.87	-	1.98	1.71
	60.79	1.56	0.71	0.32	-	-	1.53	0.29	-	-	-	-	-	-	-	0.09	0.73	-		
	37.61	1.41	0.69	1.12	-	-	0.93	0.52	-	-	-	-	-	-	-	0.40	1.00	-		
<i>Peltophorum dubium</i> *	75.06	0.72	0.10	-	-	0.09	-	-	-	0.21	0.72	1.81	1.23	-	-	1.05	-	-	2.06	1.75
	54.13	0.29	0.55	-	-	0.39	-	-	-	1.86	0.18	0.08	1.60	-	-	0.65	-	-		
	31.63	0.51	1.90	-	-	0.41	-	-	-	0.83	0.85	0.62	0.54	-	-	0.93	-	-		
<i>Platymenia reticulata</i> *	88.96	-	1.35	0.19	0.32	-	-	-	-	1.74	0.13	0.00	-	-	-	-	-	-	1.87	1.66
	56.58	-	1.26	1.15	0.65	-	-	-	-	0.49	1.18	0.15	-	-	-	-	-	-		
	35.75	-	0.89	0.10	0.80	-	-	-	-	1.02	1.45	0.63	-	-	-	-	-	-		
<i>Pseudobombax tomentosum</i>	87.79	0.68	1.38	0.82	-	-	0.28	-	-	-	1.47	0.62	-	0.58	-	-	-	-	1.98	1.71
	53.11	0.77	0.67	0.22	-	-	0.77	-	-	-	0.66	1.89	-	0.57	-	-	-	-		
	19.61	0.98	0.98	0.46	-	-	0.31	-	-	-	0.53	1.15	-	1.47	-	-	-	-		

Continuação...

Espécies	G (%)	Laboratório																	Sig	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	0.01	0.05
<i>Pterogyne nitens*</i>	71.17		- 0.58		- 1.14			- 0.80		1.43	0.76			0.32					1.87	1.66
	51.74		0.54		- 1.70			- 0.24		0.15	- 0.08			1.32						
	35.79		1.33		0.07			- 0.25		0.70	- 1.61			- 0.25						
<i>Qualea grandiflora</i>	85.88	1.14			1.26	- 0.83	- 0.72			0.10	- 0.95								1.87	1.66
	44.38	- 0.90			0.93	0.21	- 1.49			1.00	0.25									
	27.08	0.40			0.76	0.76	- 1.91			- 0.13	0.13									
<i>Schinus terebinthifolius</i>	76.43		0.76			- 1.57	- 0.30	0.12		- 0.51		- 0.09					1.60		1.98	1.71
	35.11		- 0.69			- 1.35	1.61	0.95		- 0.20		0.05					- 0.36			
	29.71		- 0.59			- 1.69	- 0.19	0.11		1.32		0.01					1.02			
<i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum*</i>	97.72	0.73			- 0.48	- 2.02	0.40	- 0.04		0.73		0.68							1.98	1.71
	76.86	1.39			0.97	1.39	- 0.16	0.97		- 0.25		- 0.43								
	65.68	- 0.35			- 1.48	0.78	- 0.35	0.78		- 0.73		1.35								
<i>Senna macranthera*</i>	69.78	- 1.26	- 1.09	0.43	1.71			0.43		- 0.07		0.60	- 0.75						2.06	1.75
	53.96	- 1.97	0.34	0.62	0.55			1.04		0.62		- 0.35	0.86							
	32.23	- 0.57	- 0.77	0.35	1.12			- 0.98		0.66		1.38	- 1.18							
<i>Senna multijuga*</i>	89.65	0.19	- 0.49				1.57	- 0.49		- 1.32	0.54								1.87	1.66
	56.75	- 1.24	0.51				1.24	0.36		- 0.80	0.95									
	42.79	- 0.57	- 0.87				1.01	- 1.02		0.11	1.35									
<i>Stryphnodendron barbadetimam*</i>	79.13				1.26		- 1.24	0.71		0.57		- 0.96						- 0.34	1.87	1.66
	64.79				0.28		- 1.49	0.47		1.45		- 0.60						- 0.11		
	40.46				1.27		- 0.18	0.18		- 1.35		1.06						- 0.62		
<i>Stryphnodendron polyphyllum*</i>	81.48	- 0.03		0.65				- 0.03			1.41	- 0.45			- 1.55				1.87	1.66
	62.17	0.57		- 0.66				0.82			0.94	- 0.04			- 1.64					
	32.58	- 0.63		1.08				0.96			1.18	0.50			- 0.93					
<i>Zeyheria tuberculosa</i>	82.65	- 0.77			- 0.77		- 0.47				0.34				- 0.17		- 1.85		1.87	1.66
	65.79	0.85			- 1.07		0.09				- 0.87				- 0.46		1.46			
	37.92	- 0.03			1.25		0.05				- 1.80				- 0.39		- 0.18			

* Espécies com sementes com dormência tegumentar.

ANEXO B

Tabela 1B. Variâncias de laboratório, da interação, de reprodutibilidade, de repetitividade, de R&R e de lote, bem como os percentuais de plântulas normais dos lotes de sementes de qualidades fisiológicas distintas, a porcentagem média e a amplitude entre os lotes de baixa e de alta qualidade.

Espécies	Variâncias						Porcentagem de Plântulas normais				
	Laboratório (Lab)	Interação (Int)	Repro (R=Lab+Int)	Repe (r=QMR)	R&R (R&R=r+R)	Lote	Qualidade do lote de sementes			Porcentagem média	Amplitude entre lotes
							Alta	Intermediária	Baixa		
<i>Acacia polyphylla</i>	6.22	-6.23	-0.01	40.77	40.76	552.41	89.50	62.71	42.63	64.94	46.88
<i>Albizia hassleri*</i>	1.95	-2.65	-0.70	32.01	31.31	294.45	64.25	54.39	30.72	49.79	33.53
<i>Anadenanthera colubrina</i>	2.29	1.45	3.74	52.27	56.01	615.20	82.17	47.83	33.88	54.63	48.29
<i>Anadenanthera macrocarpa</i>	4.73	7.98	12.71	47.05	59.76	509.35	76.22	46.75	31.75	51.57	44.47
<i>Apuleia leiocarpa*</i>	14.62	-5.86	8.76	71.21	79.97	174.84	86.87	71.00	59.63	72.50	27.24
<i>Astronum fraxinifolium</i>	2.26	2.64	4.89	40.13	45.03	562.31	81.08	44.33	36.63	54.01	44.46
<i>Cariniana estrellensis</i>	-0.51	13.16	12.64	53.09	65.74	268.19	70.54	44.68	38.36	51.19	32.18
<i>Cariniana legalis</i>	21.31	-5.42	15.90	96.90	112.79	523.74	66.71	58.29	23.42	49.47	43.29
<i>Cassia leptophylla*</i>	1.74	6.57	8.31	68.06	76.37	424.50	78.75	53.57	37.67	56.66	41.08
<i>Cedrela fissilis</i>	7.02	9.40	16.42	60.60	77.01	654.72	87.89	57.50	36.89	60.76	51.00
<i>Cedrela odorata</i>	2.92	1.09	4.01	32.13	36.14	403.72	90.11	66.97	49.66	68.91	40.45
<i>Ceiba speciosa</i>	14.93	-6.32	8.62	79.26	87.88	458.99	75.82	46.96	33.86	52.21	41.96
<i>Citharexylum myrianthum</i>	8.43	-7.34	1.09	49.03	50.13	475.74	58.50	32.52	15.13	35.38	43.38
<i>Copaifera langsdorffii</i>	0.83	-2.69	-1.86	24.59	22.73	264.93	92.79	69.93	60.60	74.44	32.19
<i>Cordia americana</i>	23.28	-4.36	18.92	116.06	134.98	321.29	82.33	53.88	48.90	61.70	33.43
<i>Cybistax antisiphilitica</i>	1.05	5.43	6.48	39.49	45.97	1366.25	89.97	55.86	14.75	53.53	75.22
<i>Dalbergia miscolobium</i>	19.11	-5.34	13.77	90.63	104.40	261.60	72.63	50.23	41.00	54.62	31.63
<i>Dalbergia nigra</i>	1.61	-3.31	-1.70	33.31	31.61	332.66	94.42	68.63	59.13	74.06	35.29
<i>Enterolobium contortisiliquum*</i>	0.25	5.09	5.34	25.55	30.89	1504.19	95.27	46.09	16.43	52.60	78.84
<i>Enterolobium maximum</i>	9.19	20.44	29.63	104.41	134.05	217.61	70.67	51.25	41.13	54.35	29.54

Continuação...

Espécies	Variâncias						Porcentagem de Plântulas normais				
	Laboratório (Lab)	Interação (Int)	Repro (R=Lab+Int)	Repe (r=QMR)	R&R (R&R=r+R)	Lote	Qualidade do lote de sementes			Porcentagem média	Amplitude entre lotes
							Alta	Intermediária	Baixa		
<i>Erythrina speciosa</i> *	0.73	23.01	23.74	50.93	74.67	412.18	82.42	57.48	40.86	60.25	41.55
<i>Gallesia integrifolia</i>	15.95	-12.07	3.89	79.52	83.41	368.31	62.38	38.29	24.38	41.68	38.00
<i>Guazuma ulmifolia</i> *	2.62	-1.78	0.84	24.21	25.05	234.23	81.28	68.35	49.13	66.25	32.15
<i>Handroanthus aureus</i>	0.32	3.45	3.77	28.81	32.58	239.77	47.24	27.96	14.92	30.04	32.32
<i>Handroanthus chrysotrichus</i>	5.47	-3.73	1.73	38.52	40.25	381.67	87.74	71.65	47.94	69.11	39.81
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	4.66	-2.07	2.59	50.10	52.70	297.04	69.17	44.73	35.78	49.89	33.39
<i>Handroanthus roseo-albus</i>	9.78	-10.48	-0.70	61.08	60.38	810.95	81.54	44.65	25.38	50.52	56.17
<i>Hymenaea courbaril</i> *	6.44	2.55	8.99	39.63	48.62	400.03	84.27	70.00	41.90	65.39	42.37
<i>Hymenaea stigonocarpa</i> *	3.25	-0.71	2.54	85.50	88.04	1072.30	93.30	43.58	28.83	55.24	64.47
<i>Jacaranda cuspidifolia</i>	3.83	1.72	5.55	31.99	37.54	400.75	83.00	60.88	41.69	61.86	41.31
<i>Jacaranda micrantha</i>	0.48	6.23	6.70	52.25	58.96	612.22	63.29	42.00	13.83	39.71	49.46
<i>Lafoensia pacari</i>	-0.54	5.49	4.95	45.00	49.95	522.33	85.67	68.04	40.33	64.68	45.33
<i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	0.79	-2.13	-1.34	33.24	31.90	750.30	91.25	58.13	34.89	61.42	56.36
<i>Mimosa scabrella</i> *	2.64	1.73	4.37	55.67	60.05	130.07	60.55	46.83	37.26	48.21	23.29
<i>Ormosia arborea</i> *	-1.81	33.03	31.21	66.59	97.81	297.14	62.75	47.83	27.92	46.17	34.83
<i>Parapiptadenia rigida</i>	-0.52	-7.17	-7.69	75.56	67.88	578.63	95.04	58.63	49.50	67.72	45.54
<i>Parkia pendula</i> *	7.16	10.99	18.15	61.96	80.10	1207.23	88.88	50.63	19.38	52.96	69.50
<i>Peltogyne confertiflora</i>	-0.05	-2.47	-2.52	31.15	28.63	852.84	96.00	60.79	37.61	64.80	58.39
<i>Peltophorum dubium</i> *	0.89	10.37	11.26	32.04	43.30	451.32	75.06	54.13	31.63	53.61	43.43
<i>Platymenia reticulata</i> *	12.82	-4.76	8.06	62.23	70.29	717.08	88.96	56.58	35.75	60.43	53.21
<i>Pseudobombax tomentosum</i>	3.16	9.15	12.31	38.54	50.85	1159.51	87.79	53.11	19.61	53.50	68.18
<i>Pterogyne nitens</i> *	2.00	7.85	9.85	31.97	41.82	311.20	71.17	51.74	35.79	52.90	35.38

Continuação...

Espécies	Variâncias						Porcentagem de Plântulas normais				
	Laboratório (Lab)	Interação (Int)	Repro (R=Lab+Int)	Repe (r=QMR)	R&R (R&R=r+R)	Lote	Qualidade do lote de sementes			Porcentagem média	Amplitude entre lotes
							Alta	Intermediária	Baixa		
<i>Qualea grandiflora</i>	8.25	5.80	14.04	56.86	70.91	909.62	85.88	44.38	27.08	52.44	58.79
<i>Schinus terebinthifolius</i>	3.99	-3.37	0.62	50.50	51.12	651.81	76.43	35.11	29.71	47.08	46.71
<i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> *	-2.75	10.22	7.47	36.47	43.94	234.42	97.72	76.86	65.68	80.09	32.04
<i>Senna macranthera</i> *	6.26	-5.06	1.21	52.81	54.02	346.20	69.78	53.96	32.23	51.99	37.56
<i>Senna multijuga</i> *	5.88	-4.77	1.12	34.42	35.54	486.73	89.65	56.75	42.79	63.06	46.86
<i>Stryphnodendron</i> <i>barbadetimam</i> *	1.38	0.27	1.65	35.00	36.66	380.61	79.13	64.79	40.46	61.46	38.67
<i>Stryphnodendron polyphyllum</i> *	5.59	-8.04	-2.45	48.06	45.61	590.01	81.48	62.17	32.58	58.74	48.89
<i>Zeyheria tuberculosa</i>	2.45	-1.32	1.14	49.97	51.11	495.97	82.65	65.79	37.92	62.12	44.74

* Espécies com sementes com dormência tegumentar.

Tabela 2B. Variâncias, contribuição da variância e coeficiente de variação de repetitividade, de reprodutibilidade e de R&R, porcentagem média de plântulas normais e amplitude entre os lotes de sementes de baixa e de alta qualidade para a característica plântulas normais em testes de germinação de sementes de espécies florestais brasileiras. Hachuras de coloração rosa referem-se a coeficientes de variação maiores que os seus respectivos percentuais de contribuição.

Espécies	Repetitividade			Reprodutibilidade			R&R			Classif. $CV_{R\&R}$	Plântulas normais	
	$\hat{\sigma}_r^2$	C_r	CV_r	$\hat{\sigma}_R^2$	C_R	CV_R	$\hat{\sigma}_{R\&R}^2$	$C_{R\&R}$	$CV_{R\&R}$		Média (%)	Amplitude entre os lotes
<i>Acacia polyphylla</i>	40.77	6.87	9.83	-0.01	0.00	0.00	40.76	6.87	9.83	Ótimo	64.94	46.88
<i>Albizia hassleri</i> *	32.01	9.83	11.36	-0.70	-0.21	0.00	31.31	9.61	11.24	Ótimo	49.79	33.53
<i>Anadenanthera colubrina</i>	52.27	7.79	13.24	3.74	0.56	3.54	56.01	8.35	13.70	Bom	54.63	48.29
<i>Anadenanthera macrocarpa</i>	47.05	8.27	13.30	12.71	2.23	6.91	59.76	10.50	14.99	Bom	51.57	44.47
<i>Apuleia leiocarpa</i> *	71.21	27.95	11.64	8.76	3.44	4.08	79.97	31.38	12.33	Ótimo	72.50	27.24
<i>Astronium fraxinifolium</i>	40.13	6.61	11.73	4.89	0.81	4.09	45.03	7.41	12.42	Ótimo	54.01	44.46
<i>Cariniana estrellensis</i>	53.09	15.90	14.23	12.64	3.79	6.95	65.74	19.69	15.84	Bom	51.19	32.18
<i>Cariniana legalis</i>	96.90	15.22	19.90	15.90	2.50	8.06	112.79	17.72	21.47	Regular	49.47	43.29
<i>Cassia leptophylla</i> *	68.06	13.59	14.56	8.31	1.66	5.09	76.37	15.25	15.42	Bom	56.66	41.08
<i>Cedrela fissilis</i>	60.60	8.28	12.81	16.42	2.24	6.67	77.01	10.52	14.44	Regular	60.76	51.00
<i>Cedrela odorata</i>	32.13	7.30	8.23	4.01	0.91	2.91	36.14	8.22	8.72	Ótimo	68.91	40.45
<i>Ceiba speciosa</i>	79.26	14.49	17.05	8.62	1.58	5.62	87.88	16.07	17.95	Bom	52.21	41.96
<i>Citharexylum myrianthum</i>	49.03	9.32	19.79	1.09	0.21	2.96	50.13	9.53	20.01	Regular	35.38	43.38
<i>Copaifera langsdorffii</i>	24.59	8.55	6.66	-1.86	-0.65	0.00	22.73	7.90	6.41	Ótimo	74.44	32.19
<i>Cordia americana</i>	116.06	25.44	17.46	18.92	4.15	7.05	134.98	29.58	18.83	Regular	61.70	33.43
<i>Cybistax antisyphilitica</i>	39.49	2.80	11.74	6.48	0.46	4.76	45.97	3.26	12.67	Ótimo	53.53	75.22
<i>Dalbergia miscolobium</i>	90.63	24.76	17.43	13.77	3.76	6.79	104.40	28.52	18.71	Bom	54.62	31.63
<i>Dalbergia nigra</i>	33.31	9.14	7.79	-1.70	-0.47	0.00	31.61	8.68	7.59	Ótimo	74.06	35.29

Continuação...

Espécies	Repetitividade			Reprodutibilidade			R&R			Classif. $CV_{R\&R}$	Plântulas normais	
	$\hat{\sigma}_r^2$	C_r	CV_r	$\hat{\sigma}_R^2$	C_R	CV_R	$\hat{\sigma}_{R\&R}^2$	$C_{R\&R}$	$CV_{R\&R}$		Média (%)	Amplitude entre os lotes
<i>Enterolobium contortisiliquum</i> *	25.55	1.66	9.61	5.34	0.35	4.39	30.89	2.01	10.57	Ótimo	52.60	78.84
<i>Enterolobium maximum</i>	104.41	29.69	18.80	29.63	8.43	10.02	134.05	38.12	21.30	Ruim	54.35	29.54
<i>Erythrina speciosa</i> *	50.93	10.46	11.84	23.74	4.88	8.09	74.67	15.34	14.34	Regular	60.25	41.55
<i>Gallesia integrifolia</i>	79.52	17.60	21.40	3.89	0.86	4.73	83.41	18.46	21.91	Regular	41.68	38.00
<i>Guazuma ulmifolia</i> *	24.21	9.34	7.43	0.84	0.32	1.38	25.05	9.66	7.55	Ótimo	66.25	32.15
<i>Handroanthus aureus</i>	28.81	10.58	17.87	3.77	1.38	6.46	32.58	11.96	19.00	Bom	30.04	32.32
<i>Handroanthus chrysotrichus</i>	38.52	9.13	8.98	1.73	0.41	1.91	40.25	9.54	9.18	Ótimo	69.11	39.81
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	50.10	14.33	14.19	2.59	0.74	3.23	52.70	15.07	14.55	Bom	49.89	33.39
<i>Handroanthus roseo-albus</i>	61.08	7.01	15.47	-0.70	-0.08	0.00	60.38	6.93	15.38	Bom	50.52	56.17
<i>Hymenaea courbaril</i> *	39.63	8.83	9.63	8.99	2.00	4.59	48.62	10.84	10.66	Ótimo	65.39	42.37
<i>Hymenaea stigonocarpa</i> *	85.50	7.37	16.74	2.54	0.22	2.88	88.04	7.59	16.99	Bom	55.24	64.47
<i>Jacaranda cuspidifolia</i>	31.99	7.30	9.14	5.55	1.27	3.81	37.54	8.56	9.90	Ótimo	61.86	41.31
<i>Jacaranda micrantha</i>	52.25	7.79	18.20	6.70	1.00	6.52	58.96	8.78	19.34	Bom	39.71	49.46
<i>Lafoensia pacari</i>	45.00	7.86	10.37	4.95	0.86	3.44	49.95	8.73	10.93	Ótimo	64.68	45.33
<i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	33.24	4.25	9.39	-1.34	-0.17	0.00	31.90	4.08	9.20	Ótimo	61.42	56.36
<i>Mimosa scabrella</i> *	55.67	29.28	15.48	4.37	2.30	4.34	60.05	31.58	16.07	Bom	48.21	23.29
<i>Ormosia arborea</i> *	66.59	16.86	17.68	31.21	7.90	12.10	97.81	24.76	21.42	Regular	46.17	34.83
<i>Parapiptadenia rigida</i>	75.56	11.69	12.84	-7.69	-1.19	0.00	67.88	10.50	12.17	Ótimo	67.72	45.54
<i>Parkia pendula</i> *	61.96	4.81	14.86	18.15	1.41	8.04	80.10	6.22	16.90	Bom	52.96	69.50
<i>Peltogyne confertiflora</i>	31.15	3.53	8.61	-2.52	-0.29	0.00	28.63	3.25	8.26	Ótimo	64.80	58.39

Continuação...

Espécies	Repetitividade			Reprodutibilidade			R&R			Classif. $CV_{R\&R}$	Plântulas normais	
	$\hat{\sigma}_r^2$	C_r	CV_r	$\hat{\sigma}_R^2$	C_R	CV_R	$\hat{\sigma}_{R\&R}^2$	$C_{R\&R}$	$CV_{R\&R}$		Média (%)	Amplitude entre os lotes
<i>Peltophorum dubium</i> *	32.04	6.48	10.56	11.26	2.28	6.26	43.30	8.75	12.27	Ótimo	53.61	43.43
<i>Platymenia reticulata</i> *	62.23	7.90	13.05	8.06	1.02	4.70	70.29	8.93	13.87	Regular	60.43	53.21
<i>Pseudobombax tomentosum</i>	38.54	3.18	11.60	12.31	1.02	6.56	50.85	4.20	13.33	Bom	53.50	68.18
<i>Pterogyne nitens</i> *	31.97	9.06	10.69	9.85	2.79	5.93	41.82	11.85	12.23	Ótimo	52.90	35.38
<i>Qualea grandiflora</i>	56.86	5.80	14.38	14.04	1.43	7.15	70.91	7.23	16.06	Bom	52.44	58.79
<i>Schinus terebinthifolius</i>	50.50	7.18	15.09	0.62	0.09	1.67	51.12	7.27	15.19	Bom	47.08	46.71
<i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> *	36.47	13.10	7.54	7.47	2.68	3.41	43.94	15.79	8.28	Ótimo	80.09	32.04
<i>Senna macranthera</i> *	52.81	13.20	13.98	1.21	0.30	2.11	54.02	13.50	14.14	Bom	51.99	37.56
<i>Senna multijuga</i> *	34.42	6.59	9.30	1.12	0.21	1.68	35.54	6.80	9.45	Ótimo	63.06	46.86
<i>Stryphnodendron barbadetimam</i> *	35.00	8.39	9.63	1.65	0.40	2.09	36.66	8.79	9.85	Ótimo	61.46	38.67
<i>Stryphnodendron polyphyllum</i> *	48.06	7.56	11.80	-2.45	-0.39	0.00	45.61	7.18	11.50	Ótimo	58.74	48.89
<i>Zeyheria tuberculosa</i>	49.97	9.13	11.38	1.14	0.21	1.72	51.11	9.34	11.51	Ótimo	62.12	44.74

* Espécies com sementes com dormência tegumentar.