

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 12 (3)

June 2019

Article link

<http://www.seasinop.com.br/revista/index.php?journal=SEA&page=article&op=view&path%5B%5D=705&path%5B%5D=pdf>

Included in DOAJ, AGRIS, Latindex, Journal TOCs, CORE, Discoursio Open Science, Science Gate, GFAR, CIARDRING, Academic Journals Database and NTHRYS Technologies, Portal de Periódicos CAPES.



Avaliação da germinação e vigor em sementes de milho utilizando a função de Hill

Evaluation of germination and vigor in corn seeds using the Hill function

D. J. Amorim¹, R. Q. Faria², A. R. P. Santos¹, E. A. A. Silva¹, M. M. P. Sartori¹

¹ Universidade Estadual Paulista, Botucatu

² Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí

Author for correspondence: deocleciojardim@hotmail.com

Resumo: As sementes são estruturas biológicas complexas que resultam da luta pela sobrevivência das plantas, constituindo o insumo agrícola mais importante. A germinação é um dos primeiros eventos que ocorrem na ocupação de um novo habitat, pertinente à distribuição no tempo/espaço em diferentes taxas. E uma das maneiras de entender esse processo com maior riqueza de detalhes, é por meio de estudos de regressões em função do tempo, para tal podemos aplicar regressões não lineares. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar o ajustamento de h equações não lineares para testar as seguintes hipóteses de forma geral, buscando determinar o lote de maior qualidade fisiológica: (a) H_0 : as h equações são idênticas, ou seja, podemos usar uma equação comum como estimativa das h equações envolvidas; e (b) H_0 : um determinado número de parâmetros é igual nos h grupos. Os dados de germinação foram obtidos de dois lotes de milho que foram modelados pela função de Hill de quatro parâmetros. A hipótese de melhor ajuste (raiz quadrada da estimativa de máxima verossimilhança da variância residual) foi escolhida para representar a germinação dos lotes de milho. Conclui-se que o uso de regressões não lineares por meio do teste de igualdade de parâmetros e identidade de modelos pode ser utilizado na comparação de germinação de diferentes lotes de sementes.

Palavras-chave: Germinação, Potencial fisiológico, Regressão não linear, Verossimilhança.

Abstract: The seeds are complex biological structures that result from the struggle for the survival of the plants, constituting the most important agricultural input. Germination is one of the first events that occurs in the occupation of a new habitat, pertinent to the distribution in time/space at different rates. And one of the ways to understand this process with greater detail, is through regression studies as a function of time, for this we can apply non-linear regressions. Thus, the objective of this work was to verify the adjustment of h nonlinear equations to test the following hypotheses in form general, seeking to determine the lot of higher physiological quality: (a) H_0 : the h equations are identical, that is, we can use a common equation as an estimate of the equations h involved; and (b) H_0 : a given number of parameters is equal in the h groups. Germination data were obtained from two corn lots that were modeled by the four parameter Hill function. The best fit hypothesis (square root of the maximum likelihood estimate of the residual variance) was chosen to represent the germination of the corn lots. It is concluded that the use of non-linear regressions through the test of equality of parameters and identity of models can be used in the comparison of germination of different seed lots.

Key words: Germination, Physiological potential, Nonlinear regression, Likelihood.

Introdução

As sementes constituem o meio mais sofisticado de propagação resultante da evolução das plantas, sendo utilizada como alimento humano e animal, além de material indispensável para propagação das culturas. Estas representam a base para o sucesso na produção agrícola, sendo de fundamental importância à utilização de sementes de qualidade superior (Nerling et al., 2018). As sementes em culturas de expressão econômica, como o milho (*Zea mays* L.), possuem dupla função, a qual pode ser utilizada como material para

multiplicação de plantas (sementes) e, para comercialização (grãos), sendo assim, considerado o insumo mais importante na agricultura (Marcos Filho, 2015).

A utilização de sementes que possuam elevada qualidade fisiológica/vigor é capaz de determinar o rápido potencial de germinação e desenvolvimento uniforme das plântulas sob as condições adversas do campo (Ventura et al., 2012; Rajjou et al., 2012). As variações ambientais pertinentes durante a fase de formação e colheita das sementes podem evidenciar alterações na composição química, que

depende de diversos fatores, como da variedade, fisiologia, nutrição e florescimento (Marcos Filho, 2015; Nerling et al., 2018)

A fisiologia e tecnologia de sementes têm contribuído com descobertas científicas importantes fornecendo vários tratamentos de sementes e condições ótimas de armazenamento, que são ferramentas valiosas para a produção de sementes de alta qualidade. Nesse sentido, um instrumento muito importante para avaliar o desempenho de um lote de semente é a quantificação da germinação acumulada no tempo (Joosen et al., 2010).

Análise de dados cumulativos de germinação pode ser feita de várias maneiras. Uma das possibilidades é pela análise de regressão empregando modelos não lineares, sendo uma das principais vantagens desse método o agrupamento de várias informações de germinação associadas ao tempo, em poucos parâmetros biologicamente interpretáveis. Dessa forma, os modelos não lineares podem ser utilizados para descrever o processo de germinação ao longo do tempo, possibilitando avaliar fatores genéticos e ambientais ou algum tratamento no qual as sementes possam ser submetidas que influenciam a forma da curva de germinação.

A função não linear de Hill com quatro parâmetros, é frequentemente utilizada por pesquisadores, para se obter importantes parâmetros de avaliação da qualidade fisiológica de sementes. O principal deles é aquele que indica tempo necessário para 50% das sementes viáveis germinarem (T50) (Joosen et al., 2010; Onwimol et al., 2016).

No entanto, um dos principais problemas é a comparação dos parâmetros das curvas de germinação. Para sanar esse problema Regazzi (2003), propôs o teste da razão de verossimilhança, com aproximação dada pela estatística qui-quadrado para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos não lineares. Essa metodologia pode ser aplicada a dados de germinação, buscando identificar diferenças entre os parâmetros. Recentemente esse método foi utilizado com sucesso na cultura do milho em parâmetros germinativos (Gazola et al., 2017). Devido às falhas apresentadas entre os métodos existentes na determinação de vigor das sementes, é necessário um método que apresente maior precisão na detecção em vigor baseado em uma metodologia estatística que detecte as principais diferenças.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o ajustamento de h equações não lineares utilizando a função de Hill de quatro parâmetros aos dados de germinação de dois lotes de sementes de milho, para testar algumas hipóteses tais como H_0 : as h equações são idênticas, ou seja, se é possível usar uma equação comum como estimativa das h equações envolvidas e H_0 : um determinado número de parâmetros é igual nos h grupos. Buscando determinar o lote de maior qualidade fisiológica.

Métodos

Local do experimento e origem do material vegetal - A pesquisa foi desenvolvida no laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, localizada no município de Botucatu-SP (22° 51' S de latitude, 48° 26' W de longitude, e 786 m de altitude). Para obtenção dos dados foram utilizadas as sementes da variedade de milho BRS 4103 (Lote 1) e do híbrido 2B587 RR (Lote 2) de alto rendimento, plantadas em grandes áreas em todo território brasileiro. Durante o período de março a dezembro de 2017.

Caracterização dos lotes - Avaliou-se a germinação de 20 sementes com 4 repetições por lote através do teste de emissão da raiz primária (protrusão). Para tanto, as sementes de milho foram distribuídas em folhas de papel tipo “germitest” umedecidas com a quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel, o teste foi realizado em placas de “petri” e estas foram mantidas em câmara de germinação Biochemical Oxygen Demand (B.O.D), regulada para a temperatura de 25 °C. A contagem das sementes germinadas foi efetuada em intervalos regulares de 3, 6, 12 e 24 horas até 204 horas, adotando-se como critério de germinação a protrusão da raiz primária ≥ 2 mm. Os resultados foram expressos em percentagem de germinação acumulada ao longo do tempo (Brasil, 2009).

Análise estatística – A contagem cumulativa da germinação foi analisada quanto às pressuposições de normalidade de variâncias empregando o teste de Shapiro-Wilk (modificado) a 5% de probabilidade. Posteriormente, a contagem cumulativa da germinação foi modelada por meio da equação de quatro parâmetros de Hill proposta por El-Kassaby et al. (2008):

$$y = y_0 + \frac{ax^b}{c^b + x^b}, \quad (1)$$

em que “y” a germinação acumulada no tempo (x), “y₀” é o intercepto no eixo y, “a” é a máxima germinação acumulada, “b” é o parâmetro que controla a forma da curva, e “c” corresponde a velocidade para 50% das sementes germinarem ou popularmente T50 (tempo necessário para 50% das sementes viáveis germinarem).

Para verificar as diferenças entre as curvas de germinação, foram realizados testes para verificar a igualdade de parâmetros e identidade de modelos não lineares, conforme proposto por Regazzi (2003), testando-se as seguintes hipóteses:

1. $H_0^{(1)}$: $y_{0_1} = \dots = y_{0_h}$ (= y_0) Vs. $H_a^{(1)}$: nem todos os y_0 são iguais;
2. $H_0^{(2)}$: $a_1 = \dots = a_h$ (= a) Vs. $H_a^{(2)}$: nem todos os a_i são iguais;
3. $H_0^{(3)}$: $c_1 = \dots = c_h$ (= c) Vs. $H_a^{(3)}$: nem todos os c_i são iguais;
4. $H_0^{(4)}$: $b_1 = \dots = b_h$ (= b) Vs. $H_a^{(4)}$: nem todos os b_i são iguais;

5. $H_0^{(5)} : y_{01} = \dots = y_{0h} (= y_0)$ e $b_1 = \dots = b_h (= b)$ Vs. $H_a^{(5)}$: pelo menos uma igualdade é uma desigualdade;

6. $H_0^{(6)} : y_{01} = \dots = y_{0h} (= y_0)$; $a_1 = \dots = a_h (= a)$ e $c_1 = \dots = c_h (= c)$ Vs. $H_a^{(6)}$: pelo menos uma igualdade é uma desigualdade;

7. $H_0^{(7)} : y_{01} = \dots = y_{0h} (= y_0)$; $a_1 = \dots = a_h (= a)$; $c_1 = \dots = c_h (= c)$ e $b_1 = \dots = b_h (= b)$ Vs. $H_a^{(7)}$: pelo menos uma igualdade é uma desigualdade.

As hipóteses mencionadas foram avaliadas pelo teste da razão de verossimilhança, comparando o modelo completo (com todos os parâmetros) com aqueles com restrições paramétricas (7 hipóteses descritas anteriormente).

Para a realização do teste da razão de verossimilhança, utilizou-se de variáveis auxiliares (dummy) para representação dos modelos, que assumem valores dicotômicos ou binários 0 ou 1. Dado que $h=2$, as variáveis independentes 0 e 1 aqui chamadas de D1 e D2, foram usadas para identificar os lotes Lote 1 e Lote 2 respectivamente. Sendo assim, o modelo estatístico completo utilizado para avaliar a germinação foi:

$$Y_{ij} = D_1 \left[y_{01} + \frac{a_i x_{ij}^{b_i}}{c_i + x_{ij}^{b_i}} \right] + D_2 \left[y_{01} + \frac{a_i x_{ij}^{b_i}}{c_i + x_{ij}^{b_i}} \right] + \varepsilon_{ij},$$

$j=1, \dots, n \quad e \quad i=1, \dots, h$ (2)

em que Y_{ij} é o valor observado na j -ésima unidade experimental do i -ésimo grupo; x_{ij} é o valor da variável independente associado a Y_{ij} ; y_{01} , a_i , c_i , e b_i são parâmetros ($p=8$, modelo completo); e, ε_{ij} é o erro aleatório com as pressuposições $\varepsilon_{ij} \sim NID(0, \sigma^2)$.

Como o problema é comparar as equações ajustadas individualmente para os grupos, foi utilizada a estatística do teste de verossimilhança, com aproximações pelas estatísticas χ^2 proposta por Regazzi (2003):

$$\chi^2 \text{ calculado} = -2 \ln \left(\frac{SQR_{\Omega}}{SQR_{\omega}} \right),$$

(3)

em que n é o tamanho da amostra, \ln o logaritmo natural (Log 2,718281828), SQR_{Ω} a soma do quadrado do resíduo do modelo completo (Ω) sem restrições paramétricas, ou seja, são ajustados parâmetros individuais para as curvas de germinação; SQR_{ω} é a soma do quadrado do resíduo dos modelos com restrições paramétricas (ω_1 a ω_7) impostas para testar as hipóteses (H_{01} a H_{07}).

A regra de decisão consiste em: se χ^2 calculado $\geq \chi^2$ tabelado; rejeita-se H_0 caso contrário não se rejeita H_0 . O χ^2 tabelado é determinado em função do nível de significância ($\alpha = 0,05$) e do número de graus de liberdade, obtido através da diferença entre o número de parâmetros estimados

no modelo (Ω) e o número de parâmetros de cada modelo ω_i .

Para obtenção dos parâmetros do modelo completo e restritos foi utilizado o método dos mínimos quadrados, por meio do procedimento "NLIN" do SAS 9.4 (2017) empregado o método iterativo de Marquardt.

Resultados e Discussão

Os erros dos dados cumulativos de germinação seguiram distribuição normal de acordo com o teste de Shapiro - Wilk (modificado) a 5% de probabilidade permitindo a utilização do modelo estatístico dado em (2) para testar as sete hipóteses formuladas. A condição de normalidade é essencial para a validade das conclusões (Pimentel Gomes, 2009).

Assim, modelo ω_1 foi aceito para condição em que o intercepto (y_0) foi calculado como comum para ambos os lotes, ou seja, é possível construir curvas de germinação individuais que compartilhem do mesmo intercepto. A segunda hipótese (ω_2) também foi aceita, mas desta vez a restrição paramétrica é feita em "a", calculando um único valor máximo de germinação, outra vez teríamos duas curvas formadas, mas desta vez com mesmo valor de germinação máxima. Os demais modelos (ω_3 a ω_7) foram rejeitados, uma vez que o valor-p foi menor que 0,01 (Tabela 1).

Utilizando o princípio da parcimônia deve-se partir do mais simples para o mais complexo, ou seja, devemos escolher o modelo mais parcimonioso que contemple as hipóteses formuladas, no entanto, os modelos ω_1 e ω_2 possuem o mesmo número de parâmetros, logo tal princípio não nos permite escolher o modelo mais adequado, outra solução seria calcular o coeficiente de determinação (R^2), porém temos autores que dizem que nunca devemos calcular ou utilizar R^2 como fator de escolha entre modelos por não possuir significado obvio no caso de modelos não lineares (Ratkowky, 1990).

Para escolher qual modelo adotar utilizou-se a raiz quadrada da estimativa de máxima verossimilhança da variância residual, isto é, a raiz do quadrado médio do resíduo (RQMR), indicado por Regazzi (2003) e dada por:

$$RQMR = \left[\sum_{i=1}^n \frac{(y_i - \hat{y}_i)^2}{n} \right]^{1/2},$$

(4)

em que y_i e \hat{y}_i são valores observados e estimados, respectivamente. Evidentemente, quanto menor o RQMR, melhor o ajuste. Dessa forma, ao compararmos os modelos ω_1 e ω_2 em ambos os lotes, obtivemos o menor RQMR para o modelo ω_2 com germinação máxima comum (Tabela 2).

Tabela 1: Estimativas dos parâmetros do modelo sem restrição (Ω) e dos modelos com restrições paramétricas (ω_1 a ω_7), soma dos quadrados dos resíduos (SQR), qui-quadrado calculado (χ^2) e nível de significância (P) para germinação dos lotes de milho.

LOTE	Modelos ¹								
	Parâmetros	Ω	ω_1	ω_2	ω_3	ω_4	ω_5	ω_6	ω_7
LOTE 1	y_{01}	0,416	-	-0,195	3,057	1,984	-	-	-
	a_1	95,431	96,09	-	95,284	92,816	94,887	-	-
	c_1	46,212	46,073	46,177	-	46,125	45,556	-	-
	b_1	5,053	4,979	4,939	4,676	-	-	4,454	-
LOTE 2	y_{02}	-0,605	-	-0,206	-1,830	-1,848	-	-	-
	a_2	97,246	96,808	-	97,181	99,533	98,001	-	-
	c_2	52,288	52,358	52,280	-	52,755	53,271	-	-
	b_3	7,719	7,807	7,859	8,041	-	-	8,479	-
Comum	y_0	-	-0,194	-	-	-	-0,184	0,552	0,382
	a	-	-	96,477	-	-	-	96,462	96,050
	c	-	-	-	50,228	-	-	50,307	48,801
	b	-	-	-	-	6,1552	6,0945	-	6,001
SQR ($n\sigma^2$)²		58,735	60,834	62,144	299,100	153,300	189,500	412,000	735,600
χ^2 calculado³			1,053	1,692	48,832	28,780	35,140	58,439	75,829
χ^2 tabelado⁴			3,841	3,841	3,841	3,841	5,991	7,815	9,488
$P(\chi^2 \text{ tab} > \chi^2 \text{ calc})$⁵			0,304	0,193	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Decisão em relação H_{0i}			Não rejeita	Não rejeita	Rejeita	Rejeita	Rejeita	Rejeita	Rejeita

¹ ω_1 a ω_7 ajustados de acordo com as hipóteses H_{01} a H_{07} , respectivamente; ² Soma de quadrados dos resíduo proveniente da anova gerada pelo procedimento NLIN do SAS ($n=30$); ³ χ^2 calculado = $-n \cdot \ln(SQR_{\Omega} / SQR_{\omega_i})$; ⁴ χ^2 tabelado ($\alpha; p, \Omega, p, \omega$); ⁵ $P(\chi^2 \text{ tab} > \chi^2 \text{ calc})$ = nível de significância do teste.

Tabela 2. Raiz do quadrado médio do resíduo para os modelos ω_1 e ω_2 para os lotes de milho Lote 1 e Lote 2.

LOTE	ω_1	ω_2
01	0,53026 b	0,00032 a
02	0,52998 b	0,18230 a

Comparação na linha, em que o menor valor indicar o melhor modelo.

As curvas de germinação dos lotes 1 e 2 utilizando o modelo ω_2 tem a estimativa de máxima germinação comum, mas os demais parâmetros são diferentes indicando que mesmo em lotes com germinação final estatisticamente igual, o processo germinativo pode ser diferente como evidenciado na Figura 1.

A principal diferença nos lotes de milho está na no período de tempo em que ocorre a germinação, principalmente no parâmetro “c” da função de Hill que corresponde ao T50 que é adotado como uma medida de vigor. Para sustentar a hipótese que parâmetro “c” da função de Hill é a principal diferença entre os lotes, a hipótese $H_0^{(3)}$ foi rejeitada, ou seja, o T50 é diferente, desta maneira podemos considerar o Lote 1 como mais vigoroso.

As demais hipóteses formuladas para os modelos restritos deixam claro que não se pode ter mais de um parâmetro comum para ambos os lotes e, assim sendo, não é possível ajustar uma única curva de germinação.

Portanto, de acordo com os parâmetros “c₁” e “c₂”, da equação de Hill, o Lote 1 é o que apresenta maior qualidade fisiológica/vigor, isto se deve ao menor T50 (46,2 h). Em contrapartida, a menor velocidade inicial da germinação apresentada pelo Lote 2 ocasionou um maior T50 (52,3 h), o que pode estar relacionado a danos ocorridos nos tecidos antes do início do desenvolvimento do eixo embrionário, devido a restauração das organelas e tecidos, durante a germinação das sementes (Matthews et al., 2012).

Embora, os lotes de milho possuam germinações finais estatisticamente iguais ($H_0^{(2)}$), a maior velocidade de germinação e consequentemente o menor T50 em situações de campo seria determinante para o sucesso da lavoura diante de uma intempérie climática, pois lotes mais vigorosos normalmente são capazes de estabelecer o estande mais rápido, uma vez que o vigor, está intimamente ligado a capacidade teórica das sementes em expressar suas funções vitais sob condições ambientais favoráveis e desfavoráveis (Marcos Filho, 2015).

Dessa forma, é importante o emprego de metodologias estatísticas confiáveis e precisas para avaliação de vigor. Por isso, o nosso trabalho apresenta potencial para ser empregado na avaliação de vigor de sementes de milho utilizando o teste de protrusão associado ao teste da razão de

verossimilhança, uma vez que o mesmo foi aceito nas Regras da International Testing Association (ISTA) para o *Zea mays* L. como um teste de vigor validado pela ISTA, que é capaz de refletir os processos de deterioração como resultado de

comprometimento do metabolismo ou DNA na fase inicial de germinação de sementes (Joosen et al., 2010; Matthews et al., 2012; Onwimol et al., 2016).

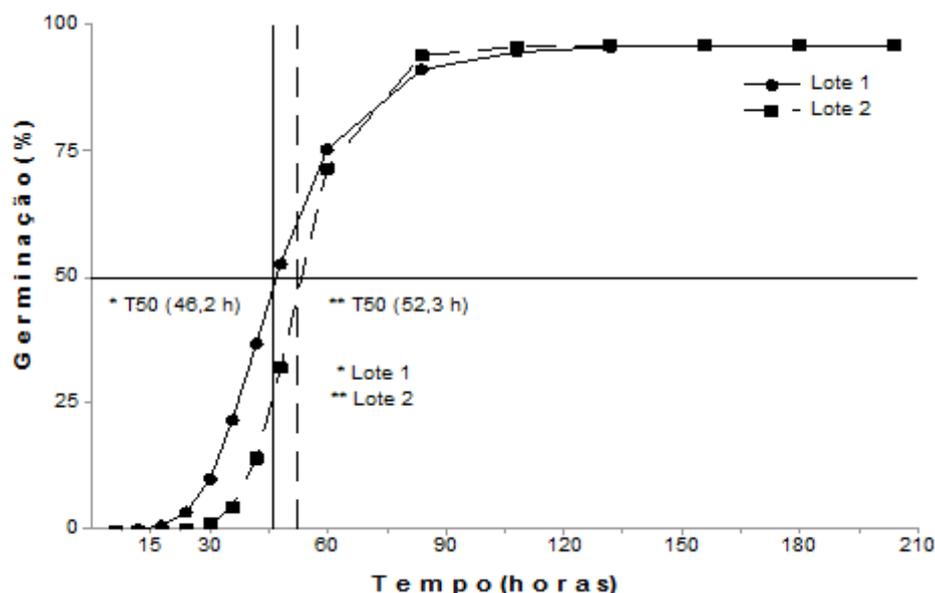


Figura 1: Germinação ajustada para modelo ω_2 para os lotes de milho 1 e 2.

O teste da razão de verossimilhança vem sendo empregado com a intenção de buscar o ajuste em uma curva única, mas que descreva o comportamento de duas ou mais populações, assim como verificados em trabalhos realizados por Carneiro et al. (2014) e Gazola et al. (2017), avaliando o crescimento bovino e a germinação de sementes, respectivamente. Diferentemente, o nosso trabalho busca testar apenas parâmetros biológicos como, T50 em diferentes lotes de sementes buscando elaborar novas metodologias de comparação de vigor em sementes de milho. Apesar de existirem diversos softwares de imagens que são utilizados para identificar e contar sementes e metodologias para avaliar a germinação e vigor de sementes (Joosen et al., 2010; Alvarenga et al., 2012; Onwimol et al., 2016), o teste de verossimilhança apresenta-se como mais uma alternativa, capaz de permitir a discriminação de lotes e tratamentos em sementes com maior economia, rapidez e praticidade, quando comparado aos outros métodos.

Conclusões

A função de Hill de quatro parâmetros pode ser utilizada para descrição da germinação de sementes de milho, pois fornece parâmetros interpretáveis biologicamente como o T50.

Podemos utilizar o teste de razão de verossimilhança para verificar a igualdade de parâmetros e identidade de modelos não lineares para comparação de diferentes lotes de sementes,

restringindo somente um determinado parâmetro de interesse.

Considerando a hipótese $H_0^{(3)}$ os lotes de milho possuem T50 diferentes. Portanto, podemos afirmar que o Lote 1 é o mais vigoroso por apresentar 50% das sementes viáveis germinadas em menor tempo.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo "FAPESP", pelo auxílio pesquisa, processo n° 2016/13126-0.

Referências

- ALVARENGA, R.O., MARCOS FILHO, J., GOMES JUNIOR, F.G. Avaliação do vigor de sementes de milho superdoce por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas. *Revista Brasileira de Sementes* 34: 488 - 494, 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília : Mapa/ACS, 399 p. 2009.
- EL-KASSABY, Y. A., MOSS, I., KOLOTELO, D., STOEHR, M. Seed germination: Mathematical representation and parameters extraction. *Forest Science* 54: 220–227, 2008.
- Gazola, S., SCAPIM, C. A., BRACCINI, A. L., AMARAL JÚNIOR, A. T., VIVAS, M. Modelos não lineares na análise de curvas de percentuais germinativos de sementes de *Zea mays*. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo* 16: 142-152, 2017.

JOOSEN, R. V. L., KODDE, J., WILLEMS, L. A. J., LIGTERINK, W., VAN DER PLAS, L. H. W., HILHORST, H. W. M. Germinator: A software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. *Plant Journal* 62: 148–159, 2010.

MARCOS FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. 2 ed. Londrina: ABRATES, 659 p. 2015.

MATTHEWS, S., NOLI, E., DEMIR, I., KHAJEH-HOSSEINI, M. M.-H. Wagner Evaluation of seed quality: from physiology to international standardization. *Seed Science Research* 22: S69-S73, 2012.

NERLING, D., COELHO, C. M. M., BRUMMER, A. Biochemical profiling and its role in physiological quality of maize seeds. *Journal of Seed Science* 40: 7-15, 2018.

ONWIMOL, D., CHANPRAME, S., THONGKET, T. Arrest of cell cycle associated with delayed radicle emergence in deteriorated cucumber. *Seed Science Technology* 40: 238 – 247, 2012.

PIMENTEL GOMES, F. Curso de estatística experimental. 15 ed. Piracicaba: FEALQ, 451 p. 2009.

RAJJOU, L., DUVAL, M., GALLARDO, K., CATUSSE, J., JOB, C., JOB, D. Seed Germination and Vigor. *Annual Review of Plant Biology* 63: 507-533, 2012.

RATKOWSKY, D. A. Handbook of nonlinear regression models. New York : Marcel Dekker, 241 p. 1990.

REGAZZI, A. J. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. *Revista Ceres* 50: 9-26, 2003.

SAS INSTITUTE. Base SAS 9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures. SAS Institute, 2017.

VENTURA, D.M., MACOVEI, A., CARBONERA, D., BUTTAFAVA, A., MONDONI, A., ROSSI, G., BALESTRAZZI, A. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. *Plant Physiology and Biochemistry* 60: 196-206, 2012.