

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CÂMPUS DE CHAPADÃO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL

JOSIANE VOGEL CORTINA THEODORO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SOJA
PELOS TESTES DE pH DO EXSUDATO, ALAGAMENTO
E ÍNDICE DE RESISTÊNCIA AO ENRUGAMENTO**

CHAPADÃO DO SUL – MS
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CÂMPUS DE CHAPADÃO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL

JOSIANE VOGEL CORTINA THEODORO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SOJA
PELOS TESTES DE pH DO EXSUDATO, ALAGAMENTO
E ÍNDICE DE RESISTÊNCIA AO ENRUGAMENTO**

Orientadora: Prof^ª. Dra. Charline Zaratini Alves

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul, para obtenção do
título de Mestre em Agronomia, área
de concentração: Produção Vegetal.

CHAPADÃO DO SUL – MS
2013



Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Câmpus de Chapadão do Sul



CERFIFICADO DE APROVAÇÃO

DISCENTE: Josiane Vogel Cortina Theodoro

ORIENTADORA: Prof^a. Dra. Charline Zaratín Alves

**TÍTULO: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SOJA
PELOS TESTES DE pH DO EXSUDATO, ALAGAMENTO E ÍNDICE DE
RESITÊNCIA AO ENRUGAMENTO**

Prof^a. Dra. Charline Zaratín Alves
Presidente

Prof. Dr. Aguinaldo José Freitas Leal

Prof. Dr. Marco Eustáquio de Sá

Chapadão do Sul, 06 de novembro de 2013.

DEDICATÓRIA

*Dedico ao meu marido e amigo Gustavo de Faria Theodoro e a minha
filha Beatriz Cortina Theodoro, por sempre estarmos juntos, nas alegrias, nas
lutas, sempre unidos! Amo vocês!!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me presenteou com este mestrado, capacitando e abrindo portas quando eu já não esperava mais estudar. Sempre presente, sempre providenciando tudo no tempo certo para que eu conseguisse chegar até aqui. Pelos obstáculos ultrapassados e as vitórias conquistadas!

Ao meu marido Gustavo de Faria Theodoro, muito importante em minha vida, meu amor, companheiro, amigo, que desde o começo incentivou, apoiou, acreditou em mim e esteve sempre presente. Nas horas difíceis me encorajando, a seguir em frente, também confortando com palavras, carinho e amor. E nos momentos alegres dividindo as vitórias, os obstáculos superados.

A Beatriz Cortina Theodoro, minha filha amada, presente de Deus que foi tão esperada, obrigada pela enorme paciência com a mamãe. Você estava sempre presente com um lindo sorriso, minha vidinha!

A minha professora, orientadora e amiga, Prof.^a Dra. Charline Zaratin Alves por sempre acreditar em mim, falando que eu conseguiria e orientando, guiando meus passos com muita paciência, sempre disponível e disposta a ajudar, obrigada!

Aos meus pais, Nelson Cortina e Égite Salete Vogel Cortina, mesmo longe sempre me incentivaram a buscar meus sonhos e a realizá-los. Obrigada mãe, por todas as ligações durante esse tempo, por me alegrar ao telefone com palavras de carinho e ânimo.

Às minhas irmãs, Fernanda Vogel Cortina e Denise Vogel Cortina Bento e ao cunhado Pablo Diego Presotto Bento, por torcerem sempre por mim, mesmo distantes.

Aos meus sogros, Nerson Theodoro e Vera Lúcia de Faria Theodoro, que sempre torceram por mim, pelo meu crescimento e por sempre estarem orando por minha família.

À UFMS, por ter sido o local onde tive a oportunidade de ampliar meus horizontes profissionais.

Aos professores do curso de Pós-Graduação, pelos ensinamentos e contribuição com meu desenvolvimento acadêmico.

Aos colegas da primeira turma de mestrado em Agronomia – Produção Vegetal da UFMS/ CPCS, pela amizade e convivência.

Ao Daniel Spengler, bibliotecário da UFMS/ CPCS, por sempre ter sido muito prestativo nas dúvidas em relação às referências bibliográficas e também auxiliando nas correções.

Aos colegas de trabalho, professores do Laboratório de Parasitologia Veterinária-UFMS/ CCBS- Campo Grande, Prof. Dr. Fernando Paiva, Prof. Dr. Luís Eduardo Roland Tavares e Técnico Administrativo Átilla Teixeira Gomes, pela compreensão no final desta jornada.

A elaboração deste trabalho não teria sido possível sem a colaboração e estímulo de diversas pessoas e, por isso, quero expressar toda a minha gratidão pelos que direta ou indiretamente contribuíram para que esta tarefa se tornasse uma realidade.

EPÍGRAFE

*"Nenhuma mente que se abre para uma nova idéia
voltará a ter o tamanho original."*

Albert Einstein

RESUMO

THEODORO, Josiane Vogel Cortina. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja pelos testes de pH do exsudato, alagamento e índice de resistência ao enrugamento.

Professora orientadora: Charline Zaratin Alves.

Uma das principais exigências para avaliação do vigor de sementes refere-se à obtenção de resultados confiáveis em um período de tempo relativamente curto, diminuindo riscos e prejuízos. Este trabalho teve como objetivo estudar variações nos parâmetros envolvidos no teste do pH do exsudato, teste de alagamento e índice de resistência ao enrugamento (IRE) para caracterização da qualidade de lotes de sementes de soja. Os lotes foram submetidos à determinação de teor de água e aos testes de germinação e vigor (primeira contagem de germinação, emergência, índice de velocidade de emergência, condutividade elétrica e tetrazólio). Para a realização do teste do pH do exsudato foram utilizados dez lotes de sementes de soja, com teor de água de 8 e 13%, onde cada semente foi submersa individualmente em células plásticas com 5 mL de água destilada, por períodos de 20, 30 e 40 minutos, nas temperaturas de 20, 25 e 30°C. Após cada período, foram adicionadas três gotas de solução de fenolftaleína e três gotas de solução de carbonato de sódio, homogeneizados e a leitura realizada imediatamente após o contato das soluções indicadoras com a solução de embebição. A interpretação foi realizada com base na coloração da solução: rosa, sementes viáveis e incolor inviáveis. No teste de alagamento foram utilizados nove lotes de sementes de soja, onde as sementes foram submersas em água destilada em copos plásticos de 200 mL, mantidas em germinador nas temperaturas de 25 e 30°C no escuro, e posteriormente submetidas ao teste de germinação. Foram estudados os períodos de 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas de embebição e as quantidades de água de 50 e 75 mL, sendo avaliada a porcentagem de plântulas normais germinadas de cada tratamento, e no decorrer do teste, foi calculado o IRE. Também foi determinado o teor de água antes e após cada período de alagamento para cada tratamento. O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Foi estimado o coeficiente de correlação de Pearson entre as variações nos testes do pH do exsudato e alagamento com os parâmetros avaliados inicialmente. Concluiu-se que o teor de água das sementes influencia os resultados no teste de pH do exsudato, sendo que este pode ser realizado na temperatura de 25°C com 30 e 40 minutos de embebição, respectivamente para sementes com teor de água de 8 e 13%. O IRE não foi eficiente para separar genótipos de soja quanto à qualidade fisiológica das sementes. Para avaliação do vigor de sementes de soja, o teste de alagamento pode ser realizado utilizando as combinações 25°C / 50 mL ou 30°C / 75 mL de água destilada, durante 4h.

PALAVRAS-CHAVE: *Glycine max* L.. Viabilidade. Vigor.

ABSTRACT

THEODORO, Josiane Vogel Cortina. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Physiological potential of soybean seeds by testing exudate pH test, flooding and wrinkle resistance index.

Author: Josiane Vogel Cortina Theodoro.

Adviser: Charline Zaratin Alves.

One of the main requirements for evaluation of seed vigor refers to obtain reliable results in a relatively short period of time, reducing risks and losses. This work aimed to study variations in the parameters involved exudate pH test, flooding test and wrinkle resistance index (ERI) to characterize the quality of lots of soybean seeds. The lots were subjected to the determination of water content and germination and vigor (first count of germination, emergence, speed of emergence, electrical conductivity and tetrazolium). For the test the exudates pH were used ten lots of soybean seeds, a water content of 8 and 13% where each seed was submerged in individual plastic cells with 5 mL of distilled water, for periods of 20, 30 and 40 minutes at temperatures of 20, 25 and 30°C. After each period, were added three drops of phenolphthalein solution and three drops of sodium carbonate solution, homogenized and the reading taken immediately after contact of the indicator solutions with the soaking solution. The interpretation was based on the solution color: pink, viable seeds and colorless unviable. In the test of flooding were used nine lots of soybean seeds where the seeds were submerged in distilled water in plastic cups 200 mL, kept in an incubator at 25 and 30°C in the dark, and subsequently subjected to germination test. Were study periods of 4, 8, 12, 16, 20 and 24 hours of imbibition of water and the amounts of 50 and 75 mL, assessing the percentage of normal seedlings germinated from each treatment and during the test was calculated the IRE. It was also determined water content before and after each period for each flooding treatment. The experiment was conducted in a completely randomized design with four replications, and the averages compared by the Scott-Knott test at 5% probability. Were estimated the coefficient of Pearson correlation between variations in testing the pH of the exudate and flooding test to the parameters evaluated initially. It was concluded that the water content of the seeds influences the test results of exudate pH, and this can be carried out at a temperature of 25°C at 30 and 40 minutes of immersion, respectively, for seeds with water content of 8 and 13%. The IRE was not efficient to separate soybean genotypes for seed physiological quality. To evaluate the effect of soybean seeds, the flooding test could be accomplished using combinations of the 25°C / 50 mL or 30°C / 75 mL distilled water for 4h.

KEY-WORDS: *Glycine max* L.. Viability. Vigor.

LISTA DE TABELAS

TABELA		PÁGINA
1	Valores médios das avaliações iniciais referentes ao teor de água (TA), porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE) e tetrazólio (TZ) em 10 lotes de sementes de soja. Chapadão do Sul, MS, 2013.....	37
2	Valores médios (%) de coloração rosa no teste do pH do exsudato em 10 lotes de sementes de soja com teor de água de 8 e 13%, períodos de embebição de 20, 30 e 40 minutos e temperaturas de 20, 25 e 30°C. Chapadão do Sul, MS, 2013.....	38
3	Coeficiente de correlação (r) das avaliações iniciais: germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE) e tetrazólio (TZ) com o teste do pH do exsudato à 20°C nos períodos de embebição de 20, 30 e 40 minutos, em 10 lotes de semente de soja, com teor de água de 8 e 13%. Chapadão do Sul, MS, 2013.....	39
4	Coeficiente de correlação (r) das avaliações iniciais: germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE) e tetrazólio (TZ) com o teste do pH do exsudato à 25°C nos períodos de embebição de 20, 30 e 40 minutos em sementes de 10 lotes de soja, com teor de água de 8 e 13%. Chapadão do Sul, MS, 2013.....	40
5	Coeficiente de correlação (r) das avaliações iniciais: germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE) e tetrazólio (TZ) com o teste do pH do exsudato à 30°C nos períodos de embebição de 20, 30 e 40 minutos em sementes de 10 lotes de soja, com teor de água de 8 e 13%. Chapadão do Sul, MS, 2013.....	41

6	Valores médios (%) de teor de água de sementes de soja após os períodos de 4, 8, 12, 16, 20 e 24 h imersas em 50 e 75 mL de água destilada, nas temperaturas de 25 e 30°C. Chapadão do Sul, MS, 2013.....	43
7	Dados médios obtidos para o Índice de Resistência ao Enrugamento (IRE) em nove lotes de sementes de soja. Chapadão do Sul, MS, 2013.....	44
8	Valores médios obtidos para germinação de sementes de soja após alagamento durante 4, 8, 12, 16, 20 e 24h imersas em água destilada, com 50 e 75 mL, nas temperaturas de 25° e 30°C. Chapadão do Sul, MS, 2013.....	45
9	Coeficiente de correlação (r) das avaliações iniciais: germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE) e tetrazólio (TZ) com o teste de alagamento a 25 e 30°C, nos períodos de alagamento de 4, 8, 12, 16, 20 e 24h com 50 e 75 mL de água destilada em sementes de soja. Chapadão do Sul, MS, 2013.....	47

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Soja	15
2.2 Testes de vigor	16
2.2.1 Teste do pH do exsudato	18
2.2.2 Teste de alagamento	20
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
CAPÍTULO 1 - AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SOJA PELOS TESTES DE pH DO EXSUDATO, ALAGAMENTO E ÍNDICE DE RESISTÊNCIA AO ENRUGAMENTO	28
RESUMO.....	28
ABSTRACT	29
1. INTRODUÇÃO	30
2. MATERIAL E MÉTODOS	32
2.1. Avaliações iniciais	32
2.2 Variações no teste do pH do exsudato	34
2.3 Variações no teste de alagamento	35
2.4 Delineamento experimental.....	35
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
3.1 Teste do pH do exsudato	37
3.2 Teste de alagamento.....	42
4. CONCLUSÕES	49
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja ocupa papel importante na economia mundial, sendo cultivada em quase todas as partes do mundo, sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial e o maior da América Latina. Dentre as culturas de grãos, a da soja se destaca no cenário nacional, sendo a primeira colocada em área plantada, estimando-se que na safra 2013/2014, a produção brasileira atinja 83 milhões de toneladas (IBGE, 2013).

No Brasil, a região Centro-Oeste é a maior produtora nacional, e especificamente no Estado de Mato Grosso do Sul, Rocha & Pessoa (2007) constataram que o município de Chapadão do Sul foi criado em função da produção agrícola de soja e direcionado para atender as demandas da agricultura moderna.

O uso de sementes com alto potencial fisiológico é fundamental na obtenção de resultados satisfatórios em culturas com grande importância econômica, sendo a análise de sementes uma ferramenta essencial para alcançar esses resultados (MIGUEL et al. 2001).

De acordo com Marcos-Filho (1999), os testes de vigor têm como objetivo detectar diferenças na qualidade fisiológica de lotes de sementes comercializáveis, distinguir, com segurança, lotes de baixo e alto vigor, diferenciar o potencial genético das sementes e classificar lotes em diferentes níveis de vigor, quanto à resistência ao transporte, potencial de armazenamento e emergência a campo.

Um teste de vigor deve ser econômico, rápido, simples, objetivo e reprodutível, além de fornecer resultados que indiquem o desempenho das sementes no campo (McDONALD, 1980). A rapidez na avaliação da qualidade das sementes proporciona diversas vantagens, como descarte de lotes com consequente economia dos custos de um beneficiamento desnecessário (PIANA et al., 1992).

O teste de alagamento e o pH do exsudato são testes de vigor que apresentam resultados num tempo geralmente menor que o estipulado nos procedimentos de outros testes de vigor, evitando o descarte de sementes que aparentemente não se enquadram nos padrões mínimos de germinação e

impedem o armazenamento desnecessário de lotes com baixo vigor (AMARAL & PESKE, 2000).

Embora o procedimento básico para a condução de vários testes de vigor esteja estabelecido e produza resultados confiáveis, sempre há necessidade para aprimoramento da metodologia ou inclusão de alternativas inovadoras (MARCOS FILHO et al., 2009), visto a necessidade de padronização de metodologias e de critérios para a interpretação de resultados (MENDONÇA et al., 2008). Neste contexto, objetivou-se estudar variações e combinações dos parâmetros envolvidos nos testes de pH do exsudato e alagamento em sementes de soja (*Glycine max* L.).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Soja

Os principais países produtores de soja são Estados Unidos, Brasil e Argentina, que juntos são responsáveis por 86,70% da produção mundial (EMBRAPA, 2011).

Nos últimos 15 anos poucos países cresceram tanto no comércio internacional do agronegócio quanto o Brasil, sendo um dos líderes mundiais na produção e exportação de vários produtos agropecuários, além de liderar o ranking mundial de produção e exportação de café, açúcar, etanol e suco de laranja, e o segundo maior no faturamento com as vendas externas do complexo de soja (grão, farelo e óleo) (EMBRAPA, 2010).

O Brasil é o segundo produtor mundial de soja, estimando-se que a produção brasileira na safra 2013/2014 seja de 82.953.874 toneladas, indicando aumento de 26,3% em relação à safra 2012/2013; onde somente na região Centro-Oeste, o crescimento esperado da produção de soja é de 13,5% (IGBE, 2013).

A soja ocupa mais de 54% do volume de produção de grãos dentre as oleaginosas no Brasil, sendo a fonte mais importante de proteína vegetal (MACIEL & POLETINE, 2004). Segundo as projeções do Ministério da Agricultura, até 2030, um terço dos produtos comercializados no mundo será proveniente do Brasil, em função da crescente demanda dos países asiáticos por alimentos (MAPA, 2011).

Apesar da capacidade produtiva de uma cultura depender quase que em sua totalidade da sua constituição genética, existem fatores ambientais que podem condicionar essa capacidade proporcionando um maior ou menor desempenho de uma variedade, afetando o desenvolvimento, crescimento e em último caso a produção. Os fatores ambientais influenciam direta ou indiretamente, sendo os principais: a água, a temperatura e o fotoperíodo (URBEN & SOUZA, 1993).

A cultura da soja necessita de um total de água que varia entre 450 a 800 mm/ciclo para obtenção do máximo rendimento, dependendo das condições climáticas, do manejo da cultura e da duração do ciclo (EMBRAPA,

2010). Também necessita de uma determinada quantidade de energia térmica para completar seu desenvolvimento em certa fase do ciclo fenológico, o que torna os estádios fenológicos diretamente influenciados pela temperatura, onde a mais adequada está entre 20 a 30°C, sendo que a temperatura ideal é de 30°C (MARTINS, 2011).

A sensibilidade ao fotoperíodo é característica variável entre cultivares, ou seja, cada cultivar possui seu fotoperíodo crítico, acima do qual o florescimento é atrasado. A soja é considerada planta de dia curto e em função dessa característica, a faixa de adaptabilidade de cada cultivar varia à medida que se desloca em direção ao norte ou ao sul (EMBRAPA, 2010). Porém, atualmente as plantas de soja através do melhoramento genético estão menos sensíveis ao fotoperíodo, tudo por causa do seu cultivo na região Central do Brasil com seus menores períodos luminosos no verão (PIEROZAN JÚNIOR, 2012).

Além dos cuidados citados acima, em um programa de produção de soja, outro aspecto importante é a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, pois o emprego de metodologia adequada possibilita a estimativa do vigor, do desempenho em campo e o descarte de lotes deficientes, diminuindo riscos e prejuízos (DIAS & MARCOS FILHO, 1996).

2.2 Testes de vigor

A análise de sementes é ferramenta importante no controle de qualidade, principalmente a partir do final do período de maturação, quando as sementes atingem a maturidade fisiológica. Portanto, a seleção de testes de vigor deve atender a objetivos específicos, sendo importante a identificação das características avaliadas pelo método e sua relação com o comportamento das sementes diante de situações específicas como, por exemplo, desempenho após a secagem, potencial de armazenamento, resposta a injúrias mecânicas e as condições climáticas (BAALBAKI et al., 2009).

A avaliação da qualidade de sementes tem merecido permanente atenção dos tecnologistas, produtores e pesquisadores, refletindo o refinamento da demanda pela utilização de materiais que proporcionam maior

segurança para fins de semeadura e/ou armazenamento (HAMPTON & COOLBEAR, 1990).

A qualidade fisiológica das sementes pode ser avaliada por meio de dois parâmetros fundamentais: viabilidade e vigor, os quais representam diferentes atributos da semente. A viabilidade procura determinar se a semente encontra-se viva ou morta; o vigor representa atributos de qualidade fisiológica, não revelados no teste de germinação, sendo determinado sob condições de estresse ou medindo o declínio de alguma função bioquímica ou fisiológica (NAKAGAWA, 1999).

O vigor das sementes pode ser entendido como o nível de energia que uma semente dispõe para realizar as tarefas do processo germinativo (CARVALHO, 1986). Sua avaliação permite a detecção de possíveis diferenças na qualidade fisiológica de lotes que apresentem poder germinativo semelhante e que podem exibir comportamentos distintos, em condição de campo ou mesmo durante o armazenamento. As diferenças no comportamento de lotes com germinação semelhante podem ser explicadas pelo fato de que as primeiras alterações nos processos bioquímicos associados à deterioração, normalmente, ocorrem antes que se observe o declínio na capacidade germinativa (RIBEIRO, 1999).

Os testes de vigor apesar de possuírem diferenças tecnológicas, têm o intuito de detectar distinções significativas no potencial fisiológico de lotes comercializáveis, classificando-os em níveis de vigor, especialmente de maneira proporcional ao comportamento da emergência de plântulas em campo (Marcos Filho, 1999).

O teste padrão é o de germinação (BRASIL, 2009), porém este é conduzido sob condições favoráveis, que basicamente permitem que o lote expresse sua capacidade máxima, muitas vezes diferindo do resultado obtido no campo, onde as sementes estão expostas a situações adversas; além desse aspecto, esse teste não detecta estágios de deterioração das sementes (FRANÇA-NETO et al., 1986). Em função das limitações do tempo requerido para o teste de germinação, tem sido contínuo o interesse pelo potencial das propriedades fisiológicas e bioquímicas das sementes como índices de vigor (HAMPTON & COOLBEAR, 1990).

Os testes de vigor de sementes têm sido auxiliares ao teste de germinação, uma vez que este apresenta limitações, principalmente, no que se refere à diferenciação de lotes e a relativa demora na obtenção dos resultados, o que tem estimulado o desenvolvimento de testes de vigor que sejam confiáveis e rápidos, agilizando as decisões (CUSTÓDIO, 2005).

Além de possuir uma base teórica consistente, os testes de vigor devem ser simples, podendo ser executado em diferentes laboratórios; rapidez, com obtenção de respostas em curto espaço de tempo; baixo custo, baixa necessidade de investimentos aliados à máxima eficiência; reproduzível, possibilitando comparação entre resultados obtidos por diferentes analistas e laboratórios; e os resultados devem ser de fácil interpretação e relacionados com a emergência das plântulas em campo (MARCOS FILHO, 1999).

Como os testes de vigor oferecem parâmetros adicionais ao teste de germinação para avaliar a qualidade fisiológica de sementes, sob condições ambientais com determinado nível de estresse, qualquer evento que precede a perda do poder germinativo serve como base para avaliação do vigor; não significando, contudo, que o teste de germinação deve ser substituído pelos de vigor (MARCOS FILHO et al., 1987).

2.2.1 Teste do pH do exsudato

O teste do pH do exsudato é um teste relativamente recente, data de 1984, desenvolvido por Amaral & Peske (1984). Quando as sementes são colocadas para embeber em água ocorre liberação de açúcares, ácidos orgânicos e íons H^+ ; estes últimos acidificam o meio e provocam a diminuição do pH do exsudato das sementes; dessa maneira, sementes deterioradas liberam maior quantidade desses íons H^+ e conseqüentemente resultam em menores valores de pH. Por outro lado, as sementes menos deterioradas apresentam baixa lixiviação e não promovem grandes alterações de pH do meio. Segundo Hampton (1995), sementes com baixa viabilidade e vigor apresentam maior lixiviação de solutos que sementes vigorosas e com alta germinação e isto se relaciona com a emergência no campo.

O teste do pH do exsudato é eficaz na separação de lotes de sementes de soja e a determinação da viabilidade, além de rápido, apresenta alta

confiabilidade (BARROS & MARCOS FILHO, 1990). O teste de pH do exsudato com fenolftaleína foi utilizado para determinar a viabilidade de sementes de soja, por Amaral & Peske (1984), onde após um período de 30 minutos de embebição foi possível distinguir-se as sementes viáveis das não-viáveis, onde para sementes não-viáveis o exsudato permaneceu incolor e para sementes viáveis o exsudato adquiriu coloração rosa forte. A umidade inicial da semente e a concentração das soluções são de fundamental importância na interpretação dos resultados.

Carvalho et al. (2007) em estudo sobre o teste do pH do exsudato em sementes de soja, utilizou células individualizadas contendo em cada uma, cerca de 2 mL de água destilada, onde foram embebidas durante 30 minutos a 25°C. Após esse período foi colocada uma gota de solução de carbonato de sódio e uma de fenolftaleína. Com a análise dos resultados, observaram que houve uma relação entre o teste do pH do exsudato (80,9%) e o teste de germinação (82,5%) de plântulas normais.

No entanto, em estudo sobre o potencial fisiológico de lotes de sementes de soja, onde em cada célula foi colocada uma semente e 2 mL de água destilada, durante 30min, a 25°C e, posteriormente acrescentados uma gota de fenolftaleína e uma de carbonato de sódio, Santos et al. (2011) observaram que esse teste não foi eficiente na separação dos lotes de sementes.

Reich et al. (1999) avaliando a qualidade fisiológica em sementes de ervilha, concluíram que o teste do pH do exsudato, permitiu estimar a viabilidade das sementes, quando elas foram embebidas por 30 minutos.

Com a finalidade de verificar os resultados para genótipos de milho e simplificar o processo por meio da avaliação individual e massal das sementes, Cabrera & Peske (2002) observaram que a estimativa da viabilidade em sementes de milho pelo teste do pH do exsudato individual, é melhor obtida utilizando a solução indicadora composta de carbonato de sódio e fenolftaleína após 20 minutos de embebição à concentração de 8g.L^{-1} de Na_2CO_3 e que o processo de determinação da viabilidade de sementes de milho por meio do teste do pH do exsudato massal apresenta alta confiabilidade.

Carvalho et al. (2002) em estudo sobre testes rápidos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Citromelo swingle*, onde foram colocados 2 mL de água destilada por célula contendo uma semente, a embebição a 25°C

e uma gota de fenolftaleína e uma de carbonato de cálcio, constataram ser viável a utilização desse teste para estimar de forma rápida a viabilidade das sementes, pois classifica e diferencia os lotes, em 30 e 60 minutos à semelhança do teste de emergência das plântulas e de germinação, respectivamente.

2.2.2 Teste de alagamento

O teste de alagamento é um teste de vigor que tem como princípio identificar lotes que tenham a capacidade de suportar injúrias pela rápida embebição, aliado ao suprimento limitado de oxigênio durante o período de realização do teste. A semente em deterioração tem menor quantidade de energia disponível para o início da germinação, refletindo em menor vigor. (RICHARD et al., 1991) e quando há excesso de água, a disponibilidade de oxigênio para o embrião diminui, reduzindo ou atrasando a germinação em várias espécies (KOZLOWSKI et al., 1997).

Para a condução do teste, as sementes são inicialmente embebidas em água, por determinado período e temperatura, no escuro, para simular o alagamento do solo e, conseqüentemente, a deficiência de oxigênio (MARTIN et al., 1991). Posteriormente a este período, as sementes são submetidas ao teste padrão de germinação e os resultados são expressos em porcentagem de sementes germinadas.

Em estudo sobre o efeito do período de alagamento e temperatura sobre a germinação de soja, Wuebker et al. (2001) concluíram que as sementes são suscetíveis a perdas na germinação quando submetidas de uma a 48h de alagamento e que sementes colocadas a 15°C para germinação são mais suscetíveis ao estresse por alagamento quando comparadas as expostas a 25°C.

De acordo com Severo et al. (2007), o alagamento exerce influência sobre diferentes características de crescimento em plantas de soja, proporcionando respostas distintas de acordo com o genótipo, fazendo então necessário uma análise conjunta de parâmetros para descrever o desempenho de cada genótipo mediante a situação de estresse por alagamento.

O teste de alagamento pode ser considerado promissor para avaliação do vigor de sementes de milho, mediante imersão das sementes por 48 horas, a 25 °C. Os materiais e equipamentos necessários para a condução desse teste e os critérios para avaliação são os mesmos do teste padrão de germinação, sendo que o tempo para obtenção dos resultados é menor que o do teste de frio (GRZYBOWSKI, 2012).

Dantas et al. (2000a) objetivando avaliar os efeitos da duração e da temperatura de alagamento na germinação e no vigor de sementes de milho, submeteram as sementes por períodos de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dias a 27°C e à 5, 10, 15, 20, 25 e 30°C, durante três dias de alagamento, e realizaram avaliações de germinação e vigor (condutividade elétrica e primeira contagem de germinação). Concluíram que a germinação e o vigor das sementes decresceram imediatamente após estas serem submetidas ao alagamento; o número de sementes mortas e de plântulas anormais foi acentuado com o aumento do tempo de alagamento. As temperaturas abaixo de 20°C e acima de 25°C reduziram drasticamente a germinação e vigor das sementes, aumentando o número de sementes mortas.

Para avaliar a eficiência do teste de alagamento como teste de vigor em diferentes lotes de sementes de milho, Dantas et al. (2000b) utilizaram 50 mL da solução de alagamento (água destilada acrescida de fungicida e antibiótico) a 25°C durante três dias. Foram avaliadas a emissão da radícula, a primeira contagem da germinação e a germinação total das sementes, essas avaliações foram correlacionadas com o teste de germinação e os testes de vigor (como primeira contagem da germinação, condutividade elétrica, teste de frio, matéria seca das plântulas, peso de 100 sementes, emergência das plântulas a campo e índice de velocidade de emergência das plântulas). Os resultados obtidos apresentaram correlação com a germinação, condutividade elétrica, índice de velocidade de emergência e teste de frio. Nesse sentido, concluíram que o teste de alagamento pode ser uma alternativa viável para avaliação do vigor em sementes de milho.

Em sementes de feijão, Custódio et al. (2002) avaliaram por períodos de 0, 8, 16, 24, 32, 40 e 48 horas a 25°C para determinar o efeito da submersão em água na germinação e vigor. Obtendo diferenciação de lotes através da germinação com sementes que passaram por períodos de alagamento iguais

ou superiores a 8 horas. O número de sementes mortas e a inibição ao desenvolvimento de raiz e hipocótilo foram crescentes com o aumento do período de submersão. Portanto, os autores concluíram que o alagamento, por 8 horas, pode causar prejuízos irreversíveis ao estabelecimento da cultura do feijoeiro, porém se empregado em laboratório, pode ser um bom indicativo para diferenciação de níveis de qualidade fisiológica em sementes de feijão.

Também com sementes de feijão, Bertolin (2010) avaliou períodos de embebição 4, 12, 16, 24 e 30 horas e os volumes de 50 e 75 mL de água, na temperatura de 25°C. O autor constatou que o teste de alagamento possibilita diferenciar lotes de sementes com qualidade fisiológica distinta quando realizado com 50 ou 75 mL de água por 12 horas e é influenciado por características genotípicas, como teor de lignina do tegumento.

Custódio et al. (2009), teve como objetivo avaliar a germinação e vigor de sementes de dois cultivares de feijão, submetidas a diferentes períodos de submersão em água: 0, 4, 8, 12 e 16 horas a 25°C. Os resultados demonstraram que quatro horas de submersão podem afetar o estabelecimento da cultura para lotes menos vigorosos, e oito horas afetam até os lotes mais vigorosos; portanto, quatro horas de submersão podem ser úteis em laboratório para classificar o vigor de lotes de sementes de feijão.

Objetivando avaliar a germinação de sementes de alfafa sob condições de inundação, submetendo-se sementes a períodos de imersão em água diariamente (0, 6, 12 e 24h), durante 8 dias, Bonacin et al. (2006) concluíram que as sementes de alfafa cultivar Crioula suportaram condições de imersão em água até 12 horas diariamente, sem prejuízo na germinação; porém esta foi prejudicada com imersão contínua em água, durante oito dias.

Haddad et al. (2000), em estudo sobre a capacidade de sobrevivência em diferentes condições de inundação no estabelecimento do capim setária (*Setaria sphacelata*), concluíram que inundações por 15 dias ou mais, nas condições do experimento, comprometeram o potencial de germinação das sementes, diminuindo o número de plantas emergidas e portanto prejudicando o estande.

Como se verifica, ainda faltam muitas informações sobre o teste do pH do exsudato e o teste de alagamento como ferramentas para distinção do vigor de lotes de sementes, tornando necessária a realização de pesquisas para que

sejam fornecidos parâmetros adequados para agricultores, pesquisadores e tecnologistas de sementes, de modo a disporem de métodos e técnicas confiáveis e reproduzíveis para avaliar o vigor das sementes, principalmente da cultura de soja.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, A. S.; PESKE, S. T. pH do exsudato para estimar, em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.6, n.3, p.85-92, 1984.

AMARAL, A. S.; PESKE, S. T. Testes para avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.6, n.1, p.12-15, 2000.

BARROS, A. S. R.; MARCOS FILHO, J. Testes para avaliação rápida da viabilidade de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.25, n.10, p.1447-1459, 1990.

BAALBAKI, R.; ELIAS, S.; MARCOS FILHO, J.; McDONALD, M. B. **Seed vigor testing handbook**. Association of Official Seed Analysts. (Contribution, 32 to the Handbook on Seed Testing), 2009. 346 p.

BERTOLIN, D. C. Teste de alagamento, deterioração controlada e envelhecimento acelerado para avaliação do vigor de sementes de feijão. 112f. Ilha Solteira. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2010.

BONACIN, G. A. et al. Germinação de sementes de alfafa submetidas a períodos de imersão em água. **Científica**. Jaboticabal, v.34, n.2, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF.: MAPA/ACS, 2009. 395p.

CABRERA, A. C.; PESKE, S. T. Testes do pH do exsudato para sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.1, p.134-140, 2002.

CARVALHO, I. et al. Viabilidade de sementes de soja estimada pelo teste de tetrazólio e pH do exsudato. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16, 2007, Pelotas. **Anais...** Pelotas, RS: UFPEL, 2007.

CARVALHO, J. A. et al. Testes rápidos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Citromelo swingle*. **Revista Brasileira de Sementes**. Londrina. v.24, n.1, 2002.

CARVALHO, N. M. Vigor de sementes. In: CÍCERO, S.M.; MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R. (Coord.). **Atualização em produção de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, p. 207-223, 1986.

CUSTÓDIO, C. C. et al. Efeito da submersão em água de sementes de feijão na germinação e no vigor. **Revista Brasileira de Sementes**. Londrina, v.24, n.2, p. 49-54, 2002.

CUSTÓDIO, C. C. Testes rápidos para avaliação do vigor em sementes: uma revisão. **Colloquium Agrariae**. Presidente Prudente, v.1, n.1, p. 29-41, set. 2005.

CUSTÓDIO, C. C. et al. Alagamento de sementes de feijão e avaliação do vigor. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária) Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v.4, n.3, 2009.

DANTAS, B. F. et al. Efeito da duração e da temperatura de alagamento na germinação e no vigor de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**. Londrina, v.22, n.1, p. 88-96, 2000a.

DANTAS et al. Teste de alagamento para avaliação do vigor em sementes de milho. Comunicação Técnica. **Revista Brasileira de Sementes**. Londrina, v.22, n.2, p. 288-292, 2000b.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS-FILHO, J. Testes de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Scientia Agricola**. Piracicaba, v.53, n.1, jan/abr. 1996.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISAS AGROPECUÁRIAS. **Evolução e perspectivas de desempenho econômico associadas com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISAS AGROPECUÁRIAS. **Tecnologias de produção de soja** – Região Central do Brasil 2011. Londrina: Embrapa Soja, n.14, out. 2011.

FRANÇA-NETO, J. B.; PEREIRA, L. A. G.; COSTA, N. P. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-SOJA, 1986. 35p.

GRZYBOWISKI, C. R. C. **Respostas de sementes de milho a testes alternativos de vigor**, 2012. 46 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)– Área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

HADDAD, C. M. et al. Estabelecimento do capim setária cv. Kazungula em condições de inundação. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v.57, n.2, abri/jun, 2000.

HAMPTON, J. G. **Conductivity test**. In: Seed vigour testing seminar. Copenhagen: International Seed Testing Association, Vigour Test Committee, 1995. p.10-28.

HAMPTON, J. G.; COOLBEAR, P. Potential versus actual seed performance - can vigour testing provide an answer? **Seed Science and Technology**, Zürich, v.18, n.2, p. 215-228, 1990.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Indicadores IBGE: estatística da produção agrícola: janeiro 2013. [S.l.: s.n.], 2013. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201301comentarios.pdf>. Acesso em: 2 set. 2013.

KOZLOWSKI, T. T.; PALLARDY, S. G. **Growth control in woody plants**. San Diego: American Press, 1997. 254 p.

MACIEL, C. D. G.; POLETINE, J. P. Importância econômica e generalidade para o controle da ferrugem asiática na cultura da soja. **Revista Científica Eletrônica Agronomia**, v.3, 2004. Disponível em:<http://www.revista.inf.br/agrp/>. Acesso em 12 ago. 2013.

MARTIN, B. A.; CERWICK, S. F.; REDING, L. D. Physiological basis for inhibition of maize seed germination by flooding. **Crop Science**, v.31, n.6, p.152-157, 1991.

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

MARCOS-FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.

MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A. L. P.; LIMA, L. B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de sementes**, v.31, n.1, p.102-112, 2009.

MARTINS, K. V. **Caracterização fisiológica e influência de folhas senescentes do estrato inferior na produtividade da cultura de soja**, 2011. 77 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

McDONALD, M. B. Assessment of seed quality. **Horticultural Science**, Mount Vernon, v.15, n.1, p.784-788, 1980.

MENDONÇA, E. A. F. et al. Testes de vigor em sementes de algodoeiro herbáceo, **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.3, p.1-9, 2008.

MIGUEL, M. H. et al. Teste de frio para avaliação do potencial fisiológico de sementes de algodão. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v.58, n.4, p.741-746, out/dez, 2001.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. AGROSTAT-Estatísticas de Comercio Exterior do Agronegócio Brasileiro, 2011. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/pages/AGROSTAT.html>>. Acesso em: 09 set. 2013.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. Cap.2, p.1-24.

PIANNA, Z.; TILLMANN, M. A.; SILVA, W. R. da. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes através de testes rápidos. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.3, n.1, p.37-45, 1992.

PIEROZAN JÚNIOR, C. **Crescimento e desenvolvimento produtivo de cultivares de soja em diferentes épocas de semeadura no Centro-Sul do Estado do Paraná**. 2012. 76 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, PR, 2012.

REICH, E. G.; VILLELA, F. A.; TILLMANN, M. A. Avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de ervilha. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v.21, n.2, p.1-9, 1999.

RIBEIRO, D. M. V. **Adequação do teste de condutividade elétrica de massa e individual para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (Zea mays L.)**. 1999. 105p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

RICHARD, B. et al. Anaerobic stress induces the transcription and translation of sucrose synthase in rice. **Plant Physiology**. Rockville, v.95, n.3, p.669-674, 1991.

ROCHA, J. R.; PESSÔA, V. L. S. A soja transformando Chapadão do Sul. **Sociedade & Natureza**. Uberlândia, v.19, n.1, p. 107-121, jun. 2007.

SANTOS, J. F. et al. Avaliação do potencial fisiológico de lotes de sementes de soja. **Revista Brasileira de sementes**, Londrina, v.33, n.4, p.743-751, 2011.

SEVERO, T. M. et al. Efeito do alagamento sobre o crescimento de plantas noduladas de soja. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16, 2007, Pelotas. **Anais...** Pelotas, RS: UFPEL, 2007. Disponível em: <http://www.ufpel.tche.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA_00551.pdf>. Acesso em: 12 ago. 2013.

URBEN FILHO, G.; SOUZA, P. I. M. Manejo da cultura da soja sob cerrado: época, densidade e profundidade de semeadura. In: ARANTES, N. E. ; SOUZA, P.I.M. (Ed.) **Cultura da soja nos cerrados**. Piracicaba: POTAFOS, 1993. p.267-298.

WUEBKER, E. F.; MULLEN, R. E.; KOHLER, K. Flooding and temperature effects on soybean germination, **Crop Science**, Madison, v.41, n.1, p.1857 – 1861, 2001.

CAPÍTULO 1 - AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SOJA PELOS TESTES DE pH DO EXSUDATO, ALAGAMENTO E ÍNDICE DE RESISTÊNCIA AO ENRUGAMENTO.

RESUMO

Uma das principais exigências para avaliação do vigor de sementes refere-se à obtenção de resultados confiáveis em um período de tempo relativamente curto, diminuindo riscos e prejuízos. Este trabalho teve como objetivo estudar variações nos parâmetros envolvidos no teste do pH do exsudato, teste de alagamento e índice de resistência ao enrugamento (IRE) para caracterização da qualidade de lotes de sementes de soja. Os lotes foram submetidos à determinação de teor de água e aos testes de germinação e vigor (primeira contagem de germinação, emergência, índice de velocidade de emergência, condutividade elétrica e tetrazólio). Para o teste do pH do exsudato foram estudadas variações no teor de água das sementes (8 e 13%), período de embebição (20, 30 e 40 minutos) e temperatura (20, 25 e 30°C); e para o teste de alagamento foram estudadas variações na quantidade de água (50 e 75 mL) e temperatura (25 e 30°C). O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Foi estimado o coeficiente de correlação de Pearson entre as variações nos testes do pH do exsudato e alagamento com os parâmetros avaliados inicialmente. Concluiu-se que o teor de água das sementes influencia os resultados no teste de pH do exsudato, sendo que este deve ser realizado na temperatura de 25°C com 30 e 40 minutos de embebição, respectivamente para sementes com teor de água de 8 e 13%. O IRE não foi eficiente para separar genótipos de soja quanto à qualidade fisiológica das sementes. Para avaliação do vigor de sementes de soja, o teste de alagamento pode ser realizado utilizando as combinações 25°C / 50 mL ou 30°C / 75 mL de água destilada, durante 4h.

PALAVRAS-CHAVE: *Glycine max* L., viabilidade, vigor.

CHAPTER 1 – PHYSIOLOGICAL POTENTIAL OF SOYBEAN SEEDS BY TESTING EXUDATE pH TEST, FLOODING AND WRINKLE RESISTANCE INDEX.

ABSTRACT

One of the main requirements for evaluation of seed vigor refers to obtain reliable results in a relatively short period of time, reducing risks and losses. This work aimed to study variations in the parameters involved in the test exudate pH test, flooding and wrinkle resistance index (IRE) to characterize the quality of batches of soybean seeds. The lots were subjected to the determination of water content and germination and vigor (first count of germination, emergence, speed of emergence, electrical conductivity and tetrazolium). To test the pH of the exudate were studied variations in the water content of the seeds (8 and 13%), imbibition (20, 30 and 40 minutes) and temperature (20, 25, and 30°C) and for testing of flooding were studied variations in the amount of water (50 and 75 mL) and temperature (25 and 30°C). The experiment was conducted in a completely randomized design with four replications, and the averages compared by the Scott-Knott test at 5% probability. The coefficient of Pearson correlation between variations in testing the pH of the exudate and flooding to the parameters evaluated initially. It was concluded that the water content of seeds influences the test results of exudate pH, and this should be performed at 25°C with 30 and 40 minutes of soaking, respectively, for seeds with moisture content of 8 and 13% . The IRE was not efficient to separate soybean genotypes for seed physiological quality. To evaluate the effect of soybean seeds, flooding the test could be performed using combinations 25°C / 50 mL or 30°C / 75 mL distilled water for 4h.

KEY WORDS: *Glycine max* L., viability, vigor.

1. INTRODUÇÃO

A soja é um dos principais itens da produção agrícola, sendo o Brasil, o segundo maior produtor mundial. Estima-se que a produção brasileira de soja na safra 2013/2014 seja de 83 milhões de toneladas, indicando aumento de 26,3% em relação a safra 2012/2013. Na região Centro-Oeste, o crescimento da produção foi de 13,5% (IGBE, 2013).

Para que altos níveis de produtividade no campo sejam obtidos é necessário que as sementes sejam de alta qualidade, devendo ter características fisiológicas satisfatórias, como altas taxas de vigor, germinação e sanidade (FRANÇA NETO et al., 2010).

Uma das principais exigências para avaliação do vigor de sementes refere-se à obtenção de resultados confiáveis em um período de tempo relativamente curto, o que permite a tomada de decisões referentes às operações de colheita, processamento e comercialização, diminuindo riscos e prejuízos (DIAS & MARCOS-FILHO, 1996). Devido à grande produção brasileira de soja, cada vez mais se torna necessária a utilização de testes rápidos que avaliem a viabilidade dessas sementes de forma eficiente (SANTOS et al., 2011).

Um teste de vigor rápido é o do pH do exsudato, o qual se baseia na permeabilidade das membranas e na lixiviação de solutos, alterando o pH da solução de embebição das sementes (PESKE & AMARAL, 1986); onde sementes com baixa viabilidade e vigor apresentam maior lixiviação de solutos que sementes vigorosas e com alta germinação (HAMPTON, 1995).

Com o uso de soluções indicadoras de carbonato de sódio e fenolftaleína, Amaral & Peske (1984) em trabalho pioneiro sobre o assunto, constataram que no tempo de 30 minutos de embebição a 25°C foi possível distinguir, devido à coloração, as sementes viáveis das não viáveis, onde a solução se torna rosa para sementes viáveis e incolores para não viáveis, sendo ainda sugeridos pelos autores que fossem realizados estudos com relação ao teor de água das sementes.

Outro teste passível de adoção é o teste de alagamento, sendo um teste de vigor interessante por apresentar procedimento de fácil realização

(CUSTÓDIO et al., 2002), o qual tem como princípio identificar lotes que tenham a capacidade de suportar injúrias pela rápida embebição, aliado ao suprimento limitado de oxigênio durante o período de realização do teste. A semente em deterioração tem menor quantidade de energia disponível para o início da germinação, refletindo em menor vigor (RICHARD et al., 1991).

Observando o efeito da duração e temperatura na germinação e vigor de sementes de milho em períodos de exposição ao teste de alagamento de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, e 7 dias a 27°C e 3 dias a 5, 10, 15, 20, 25 e 30°C, Dantas et al (2000a) constataram que a germinação e o vigor decresceram em 40% após o terceiro dia e após o sétimo não houve germinação, e que temperaturas abaixo de 20°C e superiores a 25°C durante o teste aumentaram o número de sementes mortas. Estudando também esse teste de alagamento para avaliação do vigor em sementes de milho, Dantas et al. (2000b) constataram que o mesmo possibilita avaliar o vigor baseado na sobrevivência à falta de oxigênio no meio, e os resultados têm correlação com a germinação, condutividade elétrica, índice de velocidade de emergência das plântulas e teste de frio.

Avaliando o potencial fisiológico de sementes de soja através de testes rápidos, Santos et al. (2011) relataram que o teste de alagamento é um teste promissor para análise de sementes e foi o único que possibilitou a classificação de lotes em diferentes níveis de qualidade.

Tendo em vista a escassez de informações na literatura e a necessidade de padronização de testes de vigor para caracterização da qualidade de lotes de sementes, de procedimento simples e de fácil reprodução, o objetivo deste trabalho foi estudar variações e combinações dos parâmetros envolvidos nos testes de pH do exsudato e alagamento em sementes de soja (*Glycine max* L.).

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, Campus de Chapadão do Sul (CPCS), município de Chapadão do Sul – MS.

Foram obtidos 10 lotes comerciais de sementes de soja empregadas e/ou produzidas no Estado de Mato Grosso do Sul na safra agrícola 2011/2012, os quais foram enumerados, identificados, acondicionados em embalagens de papel e armazenados no laboratório durante todo o período experimental.

2.1 Avaliações iniciais

Para a caracterização inicial da qualidade dos lotes foi realizada a determinação do teor de água, teste de germinação, primeira contagem de germinação, emergência, índice de velocidade de emergência, condutividade elétrica e tetrazólio.

2.1.1 Determinação do Teor de Água

A determinação do teor de água foi realizada através do método da estufa, durante 24 horas, a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Foram utilizadas duas repetições com aproximadamente 4,0 g de sementes para cada lote. Os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida).

2.1.2 Teste de Germinação

O teste de germinação foi realizado com 200 sementes por tratamento, sendo quatro repetições de 50 sementes distribuídas sobre papel germitest, previamente umedecidos com quantidade de água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco (BRASIL, 2009), sendo mantidas em germinador regulado a 25°C . A avaliação foi realizada aos cinco e aos oito dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

2.1.3 Primeira contagem de germinação

Realizado juntamente com o teste de germinação, computando-se a porcentagem média de plântulas normais, obtidas aos cinco dias após a instalação do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais.

2.1.4 Emergência

Para realização deste teste foram utilizadas 100 sementes por tratamento, sendo quatro repetições de 25 sementes, semeadas em bandejas de poliestireno expandido com substrato Plantmax[®], mantidas em casa de vegetação e irrigada duas vezes ao dia, sendo a avaliação realizada no décimo dia após a semeadura, com os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais emergidas.

2.1.5 Índice de velocidade de emergência (IVE)

Realizado em conjunto com o teste de emergência, sendo calculado segundo a fórmula proposta por Maguire (1962):

$$\text{IVE} = N1/D1 + N2/D2 + \dots + Nn/Dn$$

onde:

IVE = índice de velocidade de emergência

N1, N2,, Nn = número de plântulas emergidas a 1, 2, e n dias após a semeadura, respectivamente.

D1, D2,, Dn = número de dias após a implantação do teste.

2.1.6 Condutividade elétrica

No teste de condutividade elétrica foram utilizadas 100 sementes por tratamento, sendo quatro repetições de 25 sementes. Estas foram pesadas e colocadas em copos plásticos contendo 75 mL de água destilada e posteriormente mantidas em germinador durante 24h a 25°C. A leitura foi feita em condutímetro de bancada e os resultados expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de semente.

2.1.7 Teste de tetrazólio

Neste teste foram utilizadas 100 sementes por lote, sendo duas repetições de 50 sementes, as quais foram pré-embebidas em papel germitest com água destilada e mantidas em germinador a 25°C durante 16h. Após esse período, foram colocadas em solução de 2,3,5 cloreto de trifeniltetrazólio e acondicionadas em temperatura de 40°C durante 4h no escuro. Posteriormente foi realizada a avaliação individual das sementes, de acordo com França Neto et al. (1999).

2.2 – Variações no teste do pH do exsudato

Para a realização desse teste foram preparadas duas soluções indicadoras: uma solução sendo composta de 1g de fenolftaleína dissolvida em 100 mL de álcool absoluto e adição de 100 mL de água destilada e fervida (AMARAL & PESKE, 1984); e outra solução contendo 0,8g de carbonato de sódio em 1000 mL de água destilada e fervida (CABRERA & PESKE, 2002).

Foram utilizados 10 lotes de sementes de soja, sendo 100 sementes por tratamento, sendo quatro repetições de 25, onde cada semente foi submersa individualmente em células plásticas com 5 mL de água destilada, por períodos de 20, 30 e 40 minutos, nas temperaturas de 20, 25 e 30°C com teor de água de 8% e 13%, sendo este último alcançado pelo método da atmosfera úmida, de acordo com Marcos Filho (2005).

Após cada período, foram adicionadas três gotas de solução de fenolftaleína e três gotas de solução de carbonato de sódio e homogeneizados com auxílio de bastão de vidro. A leitura foi realizada imediatamente após o contato das soluções indicadoras com a solução de embebição. A interpretação foi realizada com base na coloração da solução: as que apresentaram cor rosa indicaram sementes viáveis e as que apresentaram solução incolor indicaram sementes inviáveis.

2.3 – Variações no teste de alagamento

Para esse teste, foram utilizados 9 lotes de sementes de soja, sendo quatro repetições de 50 sementes por tratamento, onde as mesmas foram submersas em água destilada em copos plásticos de 200 mL. Os copos foram mantidos em germinador nas temperaturas de 25 e 30° C no escuro, e posteriormente submetidas ao teste de germinação (BRASIL, 2009). Foram estudados os períodos de 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas de embebição e as quantidades de água de 50 e 75 mL, sendo avaliada a porcentagem de plântulas normais germinadas de cada tratamento.

No decorrer do teste, foi calculado o índice de resistência ao enrugamento (IRE), através da fórmula proposta por Vieira (1980), onde foram contabilizadas as sementes sem enrugamento, a intervalos de cinco minutos, até uma hora após o início do teste. Foram consideradas como sementes enrugadas aquelas que apresentaram ondulações em toda extensão do seu tegumento, inclusive na região do hilo. Também foi determinado o teor de água antes e após cada período de alagamento para cada tratamento.

2.4. – Delineamento experimental

O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, onde foi feita a análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Também foi estimado o coeficiente de correlação de Pearson entre as variações no teste do pH do exsudato e alagamento com os parâmetros avaliados inicialmente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para teor de água inicial dos lotes de sementes de soja não foram analisados estatisticamente e encontram-se na Tabela 1, onde não houve variação maior que 2% entre o teor de água de todos os lotes, ficando dentro do recomendado para a confiabilidade dos resultados (MARCOS et. al 1987). Para a germinação não houve diferença estatística entre os lotes, porém na primeira contagem foi possível separá-los em dois grupos distintos de vigor, onde os lotes 1, 2, 3, 4 e 5 obtiveram médias maiores que os demais.

Analisando a emergência de plântulas, observou-se que houve a separação em quatro níveis de vigor, onde os lotes 1, 5, 8 e 10 apresentaram maior vigor e o lote 9 menor vigor. Já para o índice de velocidade de emergência, constatou-se que os lotes 1, 2, 4, 5, 6, 7 e 10 foram mais vigorosos e o lote 9 menos vigoroso (Tabela 1). No campo, as sementes poderão estar sujeitas a uma série de condições adversas, tais como excesso ou déficit hídrico, obstrução mecânica imposta por compactação da camada de solo que as cobre, e ataque de microrganismos e insetos (PERRY, 1981), sendo, portanto, a percentagem de emergência de plântulas geralmente menor do que os resultados obtidos no teste de germinação (YAKLICH & KULIK, 1979), por isso esse teste é de grande importância e deve sempre ser visto com muita atenção.

A ausência de significância entre os lotes na germinação e as diferenças significativas encontradas para emergência se deve provavelmente em função das condições em que foram realizados os testes, onde o primeiro é feito em condições controladas de temperatura e umidade, enquanto a emergência é realizada a campo, ocorrendo variações das condições ambientais (BRASIL, 2009).

Tabela 1. Valores médios das avaliações iniciais referentes ao teor de água (TA), porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE) e tetrazólio (TZ) em dez lotes de sementes de soja. Chapadão do Sul, MS, 2013.

Lotes	TA %	G %	PCG %	E %	IVE -	CE $\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$	TZ %
1	8,7	92,0 a	92,0 a	86,0 a	2,75 a	145,15 c	96,0 a
2	8,6	95,0 a	95,0 a	66,0 b	2,00 a	152,30 c	79,0 c
3	8,7	92,0 a	91,0 a	50,0 c	1,50 b	146,72 c	52,0 d
4	8,9	91,5 a	90,5 a	71,0 b	2,25 a	169,45 d	93,0 b
5	8,6	93,0 a	90,0 a	86,0 a	3,00 a	143,10 c	94,0 b
6	8,5	94,0 a	47,0 b	73,0 b	2,00 a	126,50 b	93,0 b
7	8,4	94,5 a	46,7 b	65,0 b	1,75 b	163,55 d	95,0 b
8	7,7	91,5 a	45,0 b	77,0 a	2,25 a	186,17 e	92,0 b
9	8,5	95,0 a	47,5 b	29,0 d	0,75 c	118,70 b	98,0 a
10	8,3	95,0 a	47,5 b	84,0 a	2,50 a	103,72 a	98,0 a

Nas colunas, médias seguidas por letras distintas diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

No teste de condutividade elétrica, observou-se que houve a estratificação dos lotes em cinco níveis de vigor, o lote 10 apresentou-se como mais vigoroso e o lote 8 como menos vigoroso. No teste de tetrazólio foi possível a separação dos lotes em quatro níveis de vigor, onde os lotes 1, 9 e 10 apresentaram maior vigor e o lote com menor vigor foi o lote 3 (Tabela 1).

3.1 Teste do pH do exsudato

Os valores resultantes das variações do teste de pH do exsudato em sementes de soja estão apresentados na Tabela 2. De modo geral, não houve diferença estatística entre os lotes, porém nas sementes com teor de água inicial de 8%, na combinação 20°C / 40 minutos os lotes 3 e 4 diferiram estatisticamente dos demais, sendo os lotes com menor viabilidade. Na temperatura de 25°C a 20 e 30 minutos de embebição, o lote 3 apresentou os menores valores de viabilidade; no tempo de 40 minutos os lotes 3 e 8 apresentaram os menores valores. Já na temperatura de 30°C, somente houve diferença estatística no tempo de 30 minutos onde os lotes 1 e 4 apresentaram valores intermediários e o lote 3 novamente o valor menor.

Nas sementes com teor de água inicial de 13%, na combinação 20°C / 20 minutos o lote 10 diferiu estatisticamente dos demais, apresentando valor

menor; a 25°C / 20 minutos o lote 3 diferiu estatisticamente dos demais com valores menores, o que também ocorreu no tempo de 40 minutos, porém juntamente com o lote 4. Na combinação 30°C / 20 minutos o lote 8 apresentou menor viabilidade, o que também aconteceu com 40 minutos juntamente com os lotes 4 e 7.

Tabela 2. Valores médios (%) de coloração rosa no teste do pH do exsudato em 10 lotes de sementes de soja com teor de água de 8 e 13%, períodos de embebição de 20, 30 e 40 minutos e temperaturas de 20, 25 e 30°C. Chapadão do Sul, MS, 2013.

Lotes	20min		30min		40min	
	8%	13%	8%	13%	8%	13%
20 °C						
1	98,0 a	100,0 a	95,0 a	99,0 a	97,0 a	97,0 a
2	99,0 a	99,0 a	99,0 a	100,0 a	98,0 a	99,0 a
3	97,0 a	95,0 a	95,0 a	97,0 a	90,0 b	96,0 a
4	100,0 a	100,0 a	100,0 a	99,0 a	94,0 b	99,0 a
5	97,0 a	100,0 a	97,0 a	100,0 a	97,0 a	100,0 a
6	100,0 a	99,0 a	97,0 a	99,0 a	99,0 a	99,0 a
7	100,0 a	100,0 a	99,0 a	100,0 a	99,0 a	100,0 a
8	96,0 a	98,0 a	97,0 a	100,0 a	100,0 a	99,0 a
9	100,0 a	98,0 a	100,0 a	97,0 a	100,0 a	99,0 a
10	100,0 a	82,0 b	97,0 a	100,0 a	98,0 a	99,0 a
25 °C						
1	98,0 a	97,0 a	98,0 a	99,0 a	100,0 a	99,0 a
2	100,0 a	100,0 a	98,0 a	99,0 a	95,0 a	100,0 a
3	94,0 b	98,0 b	90,0 b	97,0 a	90,0 b	93,0 b
4	100,0 a	99,0 a	98,0 a	98,0 a	99,0 a	99,0 b
5	100,0 a	100,0 a	98,0 a	99,0 a	95,0 a	98,0 a
6	100,0 a	100,0 a	99,0 a	100,0 a	96,0 a	99,0 a
7	100,0 a	100,0 a	99,0 a	100,0 a	99,0 a	98,0 a
8	98,0 a	99,0 a	100,0 a	97,0 a	91,0 b	97,0 a
9	99,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	99,0 a	98,0 a
10	99,0 a	100,0 a	100,0 a	99,0 a	98,0 a	100,0 a
30 °C						
1	96,0 a	97,0 a	96,0 b	98,0 a	99,0 a	99,0 a
2	99,0 a	99,0 a	98,0 a	97,0 a	93,0 a	99,0 a
3	98,0 a	97,0 a	91,0 c	96,0 a	94,0 a	97,0 a
4	100,0 a	100,0 a	95,0 b	100,0 a	94,0 a	94,0 b
5	100,0 a	99,0 a	100,0 a	100,0 a	97,0 a	95,0 a
6	97,0 a	100,0 a	100,0 a	97,7 a	97,0 a	97,0 a
7	100,0 a	99,0 a	98,0 a	99,0 a	97,0 a	91,0 b
8	98,0 a	91,0 b	97,0 a	96,0 a	96,0 a	89,0 b
9	99,0 a	100,0 a	100,0 a	99,0 a	97,0 a	98,0 a
10	97,0 a	100,0 a	99,0 a	99,0 a	95,0 a	100,0 a

Na coluna, médias seguidas por letras distintas diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

Quando o teste do pH do exsudato foi realizado na temperatura de 20°C e teor de água das sementes de 8%, observou-se correlação moderada, de acordo com Dancey & Reidy (2005), com o teste de germinação no período de 20 minutos, e correlação forte com o teste de tetrazólio no período de 40 minutos (Tabela 3). De acordo com esses autores, os valores da correlação de Pearson são interpretados da seguinte forma: $r = 0,10$ até $0,30$ (fraco); $r = 0,40$ até $0,6$ (moderado); $r = 0,70$ até 1 (forte). Para sementes com teor de água de 13%, verificou-se correlação forte para o teste de emergência e índice de velocidade de emergência no período de 30 minutos e correlação moderada para o teste de tetrazólio no período de 40 minutos.

Tabela 3. Coeficiente de correlação (r) das avaliações iniciais: germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE) e tetrazólio (TZ) com o teste do pH do exsudato à 20°C nos períodos de embebição de 20, 30 e 40 minutos, em 10 lotes de semente de soja, com teor de água de 8 e 13%. Chapadão do Sul, MS, 2013.

	20°C					
	8%			13%		
	20'	30'	40'	20'	30'	40'
	----- r -----					
G	0,636*	0,416 ^{ns}	0,508 ^{ns}	-0,331 ^{ns}	0,101 ^{ns}	0,444 ^{ns}
PCG	-0,304 ^{ns}	-0,213 ^{ns}	-0,667 ^{ns}	0,314 ^{ns}	-0,086 ^{ns}	-0,421 ^{ns}
E	-0,241 ^{ns}	-0,413 ^{ns}	0,0879 ^{ns}	-0,136 ^{ns}	0,786*	0,177 ^{ns}
IVE	-0,332 ^{ns}	-0,416 ^{ns}	-0,0223 ^{ns}	-0,072 ^{ns}	0,707*	0,134 ^{ns}
CE	-0,475 ^{ns}	0,096 ^{ns}	-0,111 ^{ns}	0,598 ^{ns}	0,274 ^{ns}	0,046 ^{ns}
TZ	0,403 ^{ns}	0,391 ^{ns}	0,773*	0,007 ^{ns}	0,455 ^{ns}	0,681*

* significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} não significativo

Em semente de milho, Cabrera & Peske (2002) observaram que a estimativa da viabilidade das sementes pelo teste do pH do exsudato individual é melhor obtida utilizando um período de 20 minutos em temperatura de 20-25°C. Em estudo sobre a avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de ervilha, nos períodos de embebição de 15, 30, 45 e 60 minutos, em temperatura ambiente de 20 a 25°C, Rech et al. (1999) concluíram que o teste do pH do exsudato individual com 30 minutos de embebição permite estimar, com rapidez, a viabilidade de sementes de ervilha.

Na temperatura de 25°C, para sementes de soja com teor de água de 8%, observou-se correlação forte do teste do pH do exsudato com o teste de tetrazólio nos períodos de 20, 30 e 40 minutos (Tabela 4). Entretanto, o valor da maior correlação ($r = 0,93$) foi obtido no período de embebição de 30 minutos, o que proporciona um melhor ajuste dos dados. Já para o teste do pH do exsudato em sementes de soja com teor de água de 13%, verificou-se correlação forte com o teste de germinação nos períodos de 20 e 30 minutos, e com o teste de tetrazólio nos períodos de 30 (correlação moderada) e 40 minutos (correlação forte).

Tabela 4. Coeficiente de correlação (r) das avaliações iniciais: germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE) e tetrazólio (TZ) com o teste do pH do exsudato à 25°C nos períodos de embebição de 20, 30 e 40 minutos em sementes de 10 lotes de soja, com teor de água de 8 e 13%. Chapadão do Sul, MS, 2013.

	25°C					
	8%			13%		
	20'	30'	40'	20'	30'	40'
	----- r -----					
G	0,439 ^{ns}	0,387 ^{ns}	0,354 ^{ns}	0,726 [*]	0,758 [*]	0,459 ^{ns}
PCG	-0,210 ^{ns}	-0,563 ^{ns}	-0,103 ^{ns}	-0,481 ^{ns}	-0,341 ^{ns}	-0,126 ^{ns}
E	0,283 ^{ns}	0,249 ^{ns}	0,058 ^{ns}	-0,147 ^{ns}	-0,113 ^{ns}	0,412 ^{ns}
IVE	0,243 ^{ns}	0,160 ^{ns}	0,042 ^{ns}	-0,199 ^{ns}	-0,167 ^{ns}	0,355 ^{ns}
CE	-0,045 ^{ns}	-0,102 ^{ns}	-0,329 ^{ns}	-0,281 ^{ns}	-0,539 ^{ns}	-0,251 ^{ns}
TZ	0,775 [*]	0,933 [*]	0,712 [*]	0,343 ^{ns}	0,577 [*]	0,760 [*]

* significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} não significativo

Os resultados obtidos são semelhantes aos encontrados por Amaral & Peske (1984), que em diversas combinações para o teste do pH do exsudato, visando estimar a viabilidade de sementes de soja, concluíram que após um período de 30 minutos de embebição, na temperatura de 25°C, foi possível distinguir as sementes viáveis das não viáveis, com emprego de uma gota de solução de carbonato de sódio e uma gota de fenolftaleína em 2 mL de exsudato de cada semente.

Estudando sementes de soja embebidas em 2 mL de água durante 30 minutos a 25°C, e posteriormente colocada uma gota de solução de fenolftaleína e uma de solução de carbonato de sódio, Santos et al. (2011) concluíram que o teste do pH do exsudato não foi eficiente na separação dos

lotes em relação à germinação. Porém, no presente trabalho foram utilizados 5 mL de água destilada e após o tempo de embebição, foram adicionadas três gotas de cada solução indicadora em cada célula, fato que pode ter sido responsável pela diferença nos resultados. Quando o teste do pH do exsudato foi realizado na temperatura de 30°C, as sementes com teor de água de 8% apresentaram correlação moderada com o teste de germinação, as sementes com teor de água de 13% apresentaram correlação moderada com o teste de tetrazólio no período de embebição de 30 minutos (Tabela 5).

Tabela 5. Coeficiente de correlação (r) das avaliações iniciais: germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE) e tetrazólio (TZ) com o teste do pH do exsudato à 30°C nos períodos de embebição de 20, 30 e 40 minutos em sementes de 10 lotes de soja, com teor de água de 8 e 13%. Chapadão do Sul, MS, 2013.

	30°C					
	8%			13%		
	20'	30'	40'	20'	30'	40'
	----- r -----					
G	0,082 ^{ns}	0,651 *	-0,045 ^{ns}	0,590 ^{ns}	0,230 ^{ns}	0,432 ^{ns}
PCG	0,136 ^{ns}	-0,504 ^{ns}	-0,300 ^{ns}	0,101 ^{ns}	0,009 ^{ns}	0,300 ^{ns}
E	-0,281 ^{ns}	0,132 ^{ns}	0,186 ^{ns}	-0,182 ^{ns}	0,141 ^{ns}	-0,086 ^{ns}
IVE	-0,186 ^{ns}	0,087 ^{ns}	0,169 ^{ns}	0,163 ^{ns}	0,217 ^{ns}	-0,032 ^{ns}
CE	0,381 ^{ns}	-0,411 ^{ns}	-0,146 ^{ns}	-0,635 ^{ns}	-0,285 ^{ns}	-0,796 ^{ns}
TZ	0,011 ^{ns}	0,7650 *	0,562 ^{ns}	0,176 ^{ns}	0,6340 *	-0,113 ^{ns}

* significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} não significativo

A correlação entre os testes do pH do exsudato e tetrazólio é extremamente interessante do ponto de vista técnico, pois atualmente, o tempo necessário para se efetuar uma análise de tetrazólio em sementes de soja é de 20 horas, e a redução desse tempo é benéfica tanto em termos operacionais quanto na rapidez para obtenção dos resultados.

Considerando que quanto mais alta a correlação, melhor é o ajuste dos dados, observou-se que é possível a obtenção de resultados de viabilidade em sementes de soja quando o teste de pH do exsudato é realizado na temperatura de 25°C com 30 minutos de embebição para sementes com 8% de teor de água ($r=0,933^*$), e 40 minutos de embebição para sementes com 13% de teor de água ($r=0,760^*$).

Esta diferença de tempo entre sementes com teor de água de 8 e 13% pode ser explicada pela integridade da membrana plasmática das células, que é fundamental para preservação da viabilidade das sementes e seus constituintes de reserva. As membranas têm função primordial, no gerenciamento do fluxo de materiais entre compartimentos celulares, controle do metabolismo intermediário, estabelecimento da interligação da atividade enzimática e manutenção da individualidade dos compartimentos celulares incompatíveis (MARCOS FILHO, 2005).

Assim, a desorganização das membranas, verificada durante a desidratação, pode comprometer o desempenho das sementes (PRIESTLEY, 1986). Dessa maneira, as membranas das sementes com 8% de teor de água se encontram em maior desorganização que as sementes com 13%, facilitando a entrada de água e a saída de solutos, resultando em menor tempo para a realização do teste do pH do exsudato.

Sugerem-se estudos complementares no teste de pH do exsudato para observação dos resultados em sementes de soja com diferentes quantidades de água em cada célula individual, além de número de gotas das soluções de fenolftaleína e carbonato de sódio.

3.2 Teste de alagamento

Os valores do teor de água resultantes no teste de alagamento em sementes de soja estão apresentados na Tabela 6. Não foi utilizado o lote 9 por falta de sementes.

Com o menor tempo de imersão, tanto na temperatura de 25°C quanto 30°C, constatou-se que o menor teor de água foi apresentado pelo lote 10, e mesmo após 24h, este continuou a apresentar o menor teor de água.

De acordo com Bewley & Black (1994), o processo de absorção de água pelas sementes se distribui em um padrão trifásico. Na primeira fase da embebição, o processo é puramente físico, dependendo somente da ligação da água à matriz da semente, ocorrendo em material vivo ou morto (CASTRO & HILHORST, 2004). Já a segunda fase, é caracterizada pela total hidratação das sementes, havendo uma estabilização que ocorre em função do balanço entre o potencial osmótico e o potencial de pressão. Nesta fase, a semente

absorve água lentamente e o eixo embrionário ainda não consegue crescer; com a retomada de crescimento do eixo embrionário na fase III, ocorre aumento no grau de umidade das sementes e protrusão da radícula.

Tabela 6. Valores médios (%) de teor de água de sementes de soja após os períodos de 4, 8, 12, 16, 20 e 24 h imersas em 50 e 75 mL de água destilada, nas temperaturas de 25 e 30°C. Chapadão do Sul, MS, 2013.

25°C – 50 mL						
	4h	8h	12h	16h	20h	24h
1	53,7	58,9	62,3	60,5	60,6	61,0
2	53,6	58,9	59,8	60,4	60,5	60,6
3	54,0	59,5	61,1	61,5	61,4	62,4
4	53,3	60,9	59,9	60,5	60,9	60,9
5	55,1	61,1	61,9	62,7	63,1	63,1
6	55,5	58,8	59,8	60,0	57,9	60,9
7	55,2	61,4	62,0	62,6	64,6	63,8
8	55,2	61,1	62,2	62,6	63,0	62,9
10	51,7	57,3	58,9	59,2	59,9	60,3
25°C – 75 mL						
1	54,1	58,9	59,4	60,1	60,1	60,2
2	54,0	59,4	59,7	60,6	60,6	60,6
3	53,9	61,5	59,7	61,3	61,1	57,8
4	53,5	59,2	59,3	61,2	60,4	60,6
5	56,7	61,9	61,9	62,6	63,3	63,7
6	54,4	58,8	60,6	60,2	60,8	60,5
7	56,9	61,3	62,1	62,7	63,6	62,1
8	55,1	55,3	61,4	61,5	62,4	63,1
10	51,7	58,2	57,9	59,3	58,8	59,3
30°C – 50 mL						
1	57,0	59,5	60,3	60,7	61,5	60,3
2	56,6	59,3	60,3	61,1	60,2	60,9
3	56,6	59,7	61,2	61,8	61,2	61,4
4	56,6	59,4	60,9	61,7	61,8	60,7
5	59,2	61,3	62,6	63,6	64,3	63,0
6	56,3	59,8	61,3	62,2	61,4	60,9
7	58,2	62,1	62,6	63,9	63,7	57,2
8	59,1	61,8	62,8	63,3	63,9	63,5
10	54,5	57,7	58,8	59,9	60,3	59,9
30°C – 75 mL						
1	56,7	59,0	60,2	60,2	60,5	60,3
2	56,9	59,1	60,3	60,8	60,5	60,7
3	57,0	60,1	61,4	62,0	61,4	61,0
4	56,5	58,8	60,5	61,1	61,4	61,1
5	59,6	61,2	62,7	62,8	63,4	62,4
6	56,5	59,2	61,1	61,1	61,2	60,3
7	58,7	61,2	63,3	63,5	63,7	62,9
8	58,2	60,7	62,4	63,9	63,7	63,5
10	54,4	58,1	59,3	60,3	60,3	59,9

Para os lotes de sementes avaliados constatou-se que houve uma rápida absorção de água até 4h após a imersão, havendo uma estabilização após este período, possivelmente este fato está relacionado ao período de duração da fase I, anterior a 4h para sementes de soja.

Os resultados médios do índice de resistência ao enrugamento (IRE) encontram-se na Tabela 7. Os lotes 1, 2, 4, 6, 9 e 10 apresentaram os menores IRE, enquanto que os lotes 5 e 7 os valores mais elevados, e os lotes 3 e 8 se comportaram como lotes intermediários.

Tabela 7. Dados médios obtidos para o Índice de Resistência ao Enrugamento (IRE) em dez lotes de sementes de soja. Chapadão do Sul, MS, 2013.

Lotes	IRE
1	7,21 a
2	8,69 a
3	16,47 b
4	9,54 a
5	20,66 c
6	10,07 a
7	21,76 c
8	18,97 b
9	9,35 a
10	12,98 a

Na coluna, médias seguidas por letras distintas diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

O IRE aumenta com a deterioração da semente (ABDUL-BAKI & ANDERSON, 1972). Porém em estudo sobre a embebição de água e qualidade fisiológica de sementes de soja, Rocha et al. (1984) constataram que genótipos com alto ou baixo IRE apresentaram um alto potencial de germinação, concluindo que o teste de embebição em água e o índice de resistência ao enrugamento não foram eficientes para separar genótipos de soja quanto à qualidade fisiológica das sementes; fato que também constatou-se no presente trabalho pois, independente do IRE ser alto ou baixo, os lotes apresentaram germinações iguais estatisticamente. Além disso, o lote 5 que apresentou alto IRE apresentou as maiores médias entre os lotes para emergência e índice de velocidade de emergência (Tabela 1).

Os valores resultantes do teste de germinação em sementes de soja após alagamento em 50 e 75 mL de água destilada, nos períodos de 4, 8, 12, 16, 20

e 24h estão apresentados na Tabela 8. O período de alagamento por 4h reduz muito a germinação das sementes, independente do lote.

Tabela 8. Valores médios obtidos para germinação de sementes de soja após alagamento durante 4, 8, 12, 16, 20 e 24h imersas em água destilada, com 50 e 75 mL, nas temperaturas de 25° e 30°C. Chapadão do Sul, MS, 2013.

25°C – 50 mL						
	4h	8h	12h	16h	20h	24h
1	32,0 b	3,00 d	12,50 c	4,00 c	1,00 b	2,00 d
2	30,0 b	0,50 d	4,00 d	2,00 c	0,50 b	0,50 d
3	3,5 c	0,00 d	0,00 d	3,00 c	0,00 b	0,00 d
4	28,0 b	4,50 d	4,50 d	0,00 c	0,00 b	2,00 d
5	42,0 a	27,00 b	20,00 b	25,25 b	9,00 a	20,50 c
6	48,5 a	47,50 a	28,00 a	42,00 a	8,50 a	16,50 c
7	31,0 b	17,00 c	32,00 a	10,00 c	10,50 a	29,50 b
8	32,0 b	6,00 d	10,50 c	5,00 c	5,50 a	39,00 a
10	45,0 a	13,50 c	0,50 d	8,50 c	3,00 b	10,00 d
25°C – 75 mL						
	4h	8h	12h	16h	20h	24h
1	25,7 f	3,0 b	26,5 c	33,0 a	1,0 c	45,5 b
2	25,0 f	0,0 b	15,0 d	15,0 b	0,0 c	23,0 d
3	3,5 g	0,0 b	0,0 d	3,0 c	0,0 c	0,5 f
4	35,5 e	12,0 a	7,0 d	33,2 a	0,0 c	11,5 e
5	44,0 d	19,0 a	34,5 b	11,5 b	8,0 b	47,5 b
6	74,0 a	8,5 b	60,5 a	9,0 b	17,0 a	59,5 a
7	51,5 c	9,0 b	8,0 d	8,0 b	15,5 a	35,2 c
8	41,5 d	16,0 a	7,0 d	1,5 c	3,0 c	24,0 d
10	58,5 b	22,0 a	10,0 d	2,5 c	0,0 c	34,0 c
30°C – 50 mL						
	4h	8h	12h	16h	20h	24h
1	7,0 c	13,5 c	17,0 a	18,0 b	0,0 a	3,0 c
2	0,0 c	3,5 d	3,0 c	3,5 c	0,5 a	0,0 c
3	2,0 c	0,5 d	0,0 c	0,0 c	0,0 a	0,0 c
4	6,0 c	7,5 c	1,5 c	1,5 c	0,5 a	0,5 c
5	17,0 b	42,5 b	21,5 a	19,5 b	0,0 a	11,0 b
6	4,7 c	64,0 a	13,5 b	42,5 a	0,0 a	16,5 b
7	5,5 c	10,0 c	11,0 b	7,0 c	0,0 a	10,0 b
8	4,0 c	3,0 d	6,0 c	3,5 c	0,0 a	7,0 b
10	28,5 a	10,5 c	11,5 b	5,5 c	0,0 a	56,0 a
30°C – 75 mL						
	4h	8h	12h	16h	20h	24h
1	47,0 a	25,2 b	30,0 c	20,0 b	0,0 a	0,5 c
2	28,0 b	8,0 c	18,0 d	7,0 c	0,5 a	0,5 c
3	3,0 d	0,5 c	0,5 e	0,5 c	0,0 a	0,0 c
4	20,0 c	9,0 c	5,5 e	0,0 c	0,0 a	0,0 c
5	31,0 b	31,5 b	46,5 b	17,5 b	0,5 a	7,5 b
6	30,5 b	64,2 a	71,0 a	32,5 a	1,5 a	4,5 b
7	8,5 d	10,0 c	50,5 b	35,5 a	1,0 a	21,0 a
8	15,5 c	8,0 c	42,5 b	36,5 a	0,5 a	6,0 b
10	35,0 b	4,0 c	9,0 e	30,0 a	1,0 a	0,0 c

Nas colunas, médias seguidas por letras distintas diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

De acordo com as avaliações iniciais o lote 10 é um dos mais vigorosos pelos testes de condutividade elétrica e tetrazólio, apresentando bom desempenho também nos testes de emergência e índice de velocidade de emergência. Provavelmente devido ao sistema de membranas estar mais organizado, o que nos leva a inferir que a embebição de 50 sementes de soja por 4h utilizando 50 mL, poderia avaliar a qualidade dos lotes em função na variação da taxa de absorção de água; entre os lotes porém não foi possível a estratificação de todos os lotes de acordo com as avaliações fisiológicas iniciais, principalmente quando adotada a temperatura de 25°C.

Quando analisado o lote 3, constata-se que o mesmo apresentou menor vigor nas temperaturas de 25 e 30°C, a 50 e 75 mL em todos os períodos de embebição; exceto a 20h a 30°C. Entretanto, apenas no teste de tetrazólio esse foi considerado o de menor vigor (Tabela 1).

Este resultado difere de Bertolin (2010), onde observou que por meio do teste de alagamento é possível diferenciar lotes de sementes de feijão com qualidade fisiológica distinta quando realizado tanto com 50 mL quanto com 75 mL de água por 12 horas, na temperatura de 25°C.

A correlação entre o teste de alagamento e os testes iniciais está representada na Tabela 9. A temperatura de 25°C e quantidade de água de 50 mL apresentou correlação forte no período de 4h com o teste de emergência e tetrazólio. Nessa mesma temperatura com 75 mL de água, e período de 4h, também houve correlação forte com o tetrazólio no período de 4h e correlação moderada no período de 24h de alagamento.

Quando o teste de alagamento foi realizado na temperatura de 30°C em 50 mL de água destilada, constatou-se que no tempo de 12h houve correlação forte com a emergência e índice de velocidade de emergência. Nesta mesma temperatura, porém com 75 mL de água destilada, o período de 4h de alagamento também houve correlação forte com a emergência, índice de velocidade de emergência no período de 4h; e no período de 20h com a germinação (Tabela 9).

Diante dos resultados obtidos, o teste de alagamento em sementes de soja pode ser realizado utilizando as combinações 25°C/ 50 mL ou 30°C/ 75 mL de água destilada, durante 4h.

Para avaliar a eficiência do teste de alagamento como teste de vigor em diferentes lotes de sementes de milho, Dantas et al. (2000b) utilizaram três lotes de sementes em submersão durante três dias, em 50 mL da solução para inundação (água destilada acrescida de fungicida e antibiótico) a 25°C. Segundo esse autor, os parâmetros avaliados no teste de alagamento apresentam correlação com a germinação, condutividade elétrica, índice de velocidade de emergência das plântulas e teste de frio, concluindo que o teste de alagamento pode ser uma alternativa viável para avaliação do vigor em sementes de milho.

Tabela 9. Coeficiente de correlação (r) das avaliações iniciais: germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE) e tetrazólio (TZ) com o teste de alagamento a 25 e 30°C, nos períodos de alagamento de 4, 8, 12, 16, 20 e 24h com 50 e 75 mL de água destilada em sementes de soja. Chapadão do Sul, MS, 2013.

	4h	8h	12h	16h	20h	24h
25°C – 50 mL						
G	0,4570 ^{ns}	0,3380 ^{ns}	0,2241 ^{ns}	0,2872 ^{ns}	0,3135 ^{ns}	-0,0105 ^{ns}
PCG	-0,4745 ^{ns}	-0,4789 ^{ns}	-0,4343 ^{ns}	-0,3694 ^{ns}	-0,6097 ^{ns}	-0,7266 ^{ns}
E	0,7723 [*]	0,2712 ^{ns}	0,1470 ^{ns}	0,2447 ^{ns}	0,2325 ^{ns}	0,2258 ^{ns}
IVE	0,5847 ^{ns}	0,1337 ^{ns}	0,0108 ^{ns}	0,1446 ^{ns}	0,0966 ^{ns}	0,5984 ^{ns}
CE	-0,4184 ^{ns}	-0,4092 ^{ns}	-0,0863 ^{ns}	-0,4199 ^{ns}	-0,0084 ^{ns}	0,3780 ^{ns}
TZ	0,8461 [*]	0,3962 ^{ns}	0,4491 ^{ns}	0,2757 ^{ns}	0,4575 ^{ns}	0,4201 ^{ns}
25°C - 75 mL						
G	0,4638 ^{ns}	0,0639 ^{ns}	0,2088 ^{ns}	-0,3560 ^{ns}	0,3338 ^{ns}	0,3665 ^{ns}
PCG	-0,7519 ^{ns}	-0,4918 ^{ns}	-0,1274 ^{ns}	0,5983 ^{ns}	-0,5436 ^{ns}	-0,3512 ^{ns}
E	0,4953 ^{ns}	0,6383 ^{ns}	0,4055 ^{ns}	0,2540 ^{ns}	0,0008 ^{ns}	0,6671 [*]
IVE	0,2205 ^{ns}	0,5599 ^{ns}	0,3246 ^{ns}	0,3797 ^{ns}	-0,1620 ^{ns}	0,5120 ^{ns}
CE	-0,3530 ^{ns}	-0,1918 ^{ns}	-0,4019 ^{ns}	0,1868 ^{ns}	-0,0563 ^{ns}	-0,4160 ^{ns}
TZ	0,7381 [*]	0,6280 ^{ns}	0,3646 ^{ns}	0,2724 ^{ns}	0,3247 ^{ns}	0,6782 [*]
30°C – 50 mL						
G	0,3174 ^{ns}	0,2019 ^{ns}	0,1909 ^{ns}	0,1779 ^{ns}	-0,1188 ^{ns}	0,5366 ^{ns}
PCG	-0,2592 ^{ns}	-0,2121 ^{ns}	-0,1461 ^{ns}	-0,2358 ^{ns}	0,5020 ^{ns}	-0,512 ^{ns}
E	0,6280 ^{ns}	0,3471 ^{ns}	0,7617 [*]	0,3624 ^{ns}	-0,2208 ^{ns}	0,4339 ^{ns}
IVE	0,5895 ^{ns}	0,2850 ^{ns}	0,7252 [*]	0,2474 ^{ns}	-0,1160 ^{ns}	0,2614 ^{ns}
CE	-0,6640 ^{ns}	-0,4159 ^{ns}	-0,3907 ^{ns}	-0,4070 ^{ns}	0,2911 ^{ns}	-0,7419 ^{ns}
TZ	0,4611 ^{ns}	0,3427 ^{ns}	0,6193 ^{ns}	0,3582 ^{ns}	-0,0780 ^{ns}	0,4062 ^{ns}
30°C – 75 mL						
G	0,1810 ^{ns}	0,1063 ^{ns}	0,1859 ^{ns}	0,3142 ^{ns}	0,7082 [*]	0,2567 ^{ns}
PCG	0,1501 ^{ns}	-0,1728 ^{ns}	-0,5164 ^{ns}	-0,8854 ^{ns}	-0,7804 ^{ns}	-0,4851 ^{ns}
E	0,8133 [*]	0,3318 ^{ns}	0,3003 ^{ns}	0,4309 ^{ns}	0,1491 ^{ns}	-0,0738 ^{ns}
IVE	0,7704 [*]	0,2395 ^{ns}	0,1302 ^{ns}	0,1364 ^{ns}	-0,1178 ^{ns}	-0,1827 ^{ns}
CE	-0,5022 ^{ns}	-0,3056 ^{ns}	0,0482 ^{ns}	-0,1020 ^{ns}	-0,4414 ^{ns}	0,3046 ^{ns}
TZ	0,5762 ^{ns}	0,3465 ^{ns}	0,4793 ^{ns}	0,6095 ^{ns}	0,4077 ^{ns}	0,2983 ^{ns}

* significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} não significativo

Como se verifica ainda faltam muitas informações sobre o teste do pH do exsudato e o teste de alagamento como ferramentas para distinção do vigor de lotes de sementes de soja, tornando necessária a realização de pesquisas para que sejam fornecidos parâmetros adequados para agricultores, pesquisadores e tecnologistas de sementes de modo a disporem de métodos e técnicas confiáveis e reproduzíveis para avaliar o vigor das sementes.

4. CONCLUSÕES

O teor de água inicial das sementes de soja influencia os resultados do teste de pH do exsudato.

O teste de pH do exsudato, para a avaliação da viabilidade de sementes de soja, nas condições testadas, deve ser realizado na temperatura de 25°C com 30 ou 40 minutos de embebição, respectivamente para sementes com teor de água de 8 e 13%.

O índice de resistência ao enrugamento (IRE) não foi eficiente para separar lotes de sementes de soja quanto à qualidade fisiológica das sementes.

O teste de alagamento, para avaliação do vigor de sementes de soja, pode ser realizado utilizando as combinações 25°C / 50 mL ou 30°C / 75 mL de água destilada, durante 4h.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-BAKI, A. A. & ANDERSON, J. D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWISKI, T.T. ed. **Seed Biology**. New York: Academic Press, v.2, p.283-315, 1972.

AMARAL, A. S.; PESKE, S. T. pH do exudato para estimar, em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.6, n.3, p.85-92, 1984.

BERTOLIN, D. C. **Teste de alagamento, deterioração controlada e envelhecimento acelerado para avaliação do vigor de sementes de feijão**. 112f. Ilha Solteira. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2010.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: Physiology of development and germination**. 2 ed. New York, Plenum Press. 1994. 445p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF.: MAPA/ACS, 2009. 395p.

CABRERA, A. C.; PESKE, S. T. Testes do pH do exsudato para sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.1, p.134-140, 2002.

CUSTÓDIO, C. C. et al. Efeito da submersão em água de sementes de feijão na germinação e no vigor. **Revista Brasileira de Sementes**. Londrina, v.24, n.2, p. 49-54, 2002.

DANCEY, C. & REIDY, J. **Estatística Sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para Windows**. Porto Alegre, Artmed, 2006. 608p.

DANTAS, B. F. et al. Efeito da duração e da temperatura de alagamento na germinação e no vigor de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**. Londrina, v.22, n.1, p. 88-96, 2000a.

DANTAS et al. Teste de alagamento para avaliação do vigor em sementes de milho. Comunicação Técnica. **Revista Brasileira de Sementes**. Londrina, v.22, n.2, p. 288-292, 2000b.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Testes de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine Max (L.) Merrill*). **Scientia Agricola**. Piracicaba, v.53, n.1, Jan/Apr., 1996.

CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. P.149-162. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. São Paulo, 2004.

FRANÇA-NETO, J. B.; LORINI, I.; KRZYŻANOWSKI, F.C.; HENNING, A. A.; MALLMANN, C.A. Ocorrência de contaminantes em grãos e sementes de soja armazenados em diversas regiões brasileiras. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 31., 2010, Brasília, DF. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, 2010. p. 467-469.

HAMPTON, J. G. **Conductivity test**. In: Seed Vigour Testing Seminar. Copenhagen: International Seed Testing Association, Vigour Test Committee, 1995. p.10-28.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Indicadores IBGE: estatística da produção agrícola: janeiro 2013. [S.l.: s.n.], 2013. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201301comentarios.pdf>. Acesso em: 2 set. 2013.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005, p. 495.

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

PERRY, D.A. Introduction; methodology and application of vigour tests; seedling growth and evaluation tests. In: PERRY, D.A. ed., **Handbook of vigour tests methods**. Zürich., Int. Seed. Test. Assoc., 1981. p. 3-20.

PESKE, S. T.; AMARAL, A. S. Prediction of the germination of soybean seeds by measurement of the pH of seed exudates. **Seed Science & Technology**, Zürich, v.14, n.1, p.151-156, 1986.

PRIESTLEY, D. A. **Seed aging**. Ithaca: Comstock Publishing Associates. 1986. p. 304.

RICHARD, B. et al. Anaerobic stress induces the transcription and translation of sucrose synthase in rice. **Plant Physiology**. Rockville, v.95, n.3, p.669-674, 1991.

REICH, E. G.; VILLELA, F. A.; TILLMANN, M. A. Avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de ervilha. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v.21, n.2, p.1-9, 1999.

SANTOS, J. F. et al. Avaliação do potencial fisiológico de lotes de sementes de soja. **Revista Brasileira de sementes**, Londrina, v.33, n.4, p.743-751, 2011.

YAKLICH, R.W. & KULIK, M.M. Evaluation of vigor tests in soybean seeds: Relationship of the standard germination test, seedling vigor classification, seedling length, and tetrazolium staining to field performance. **Crop. Sci.**, v. 19, n. 2, p. 247-252, 1979.

VIEIRA, R.D. **Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de quatorze cultivares de soja** (*Glycine max* (L.) Merrill), 1980. 76f. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1980.