**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Relações entre tamanho e potencial fisiológico de sementes de soja sob
variações na disponibilidade hídrica**

Crislaine Aparecida Gomes Pinto

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

**Piracicaba
2017**

Crislaine Aparecida Gomes Pinto
Engenheira Agrônoma

Relações entre tamanho e potencial fisiológico de sementes de soja sob variações na disponibilidade hídrica

Orientador:
Prof. Dr. **JÚLIO MARCOS FILHO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Pinto, Crislaine Aparecida Gomes

Relações entre tamanho e potencial fisiológico de sementes de soja sob variações da disponibilidade hídrica / Crislaine Aparecida Gomes Pinto. - Piracicaba, 2017.
64 p.

Tese (Doutorado) - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. *Glycine max* 2. Estresse hídrico 3. Classificação de sementes 4. Germinação 5. Vigor I. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais João Cândido Pinto e Maria Francisca Gomes Pinto, meu marido Frank Galdi Mossato, e minhas irmãs Carmélia, Francielle e Francine, pelo apoio, carinho e amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela constante presença em minha vida, ensinando e iluminando os meus caminhos.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ) pela oportunidade de realizar Pós-Graduação.

Ao professor Júlio Marcos Filho, pela orientação, paciência e conhecimentos transmitidos para o crescimento de minha formação profissional.

A Embrapa soja e em especial os pesquisadores Dr. Francisco Carlos Krzyzanowski e Dr José de Barros França Neto, pelo apoio, ensinamentos e amizade.

Ao professor Durval Dorado Neto pelo apoio e carinho.

A todos os funcionários e amigos do setor de sementes da Escola Superior “Luiz de Queiroz”, em especial a Helena, Adilson, Luis Carlos, Marcela, Daniela, Carina e Nathalia, pela colaboração, dedicação e principalmente amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES, pela bolsa concedida entre 01 de março de 2014 a 31 de julho de 2017.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo entre 01 de agosto de 2014 a 30 de junho 2017.

A Empresa Sementes Adriana, pela cessão das sementes e principalmente pelo apoio e ensinamentos.

Ao laboratório de Núcleo de Apoio a Pesquisa em Microscopia Eletrônica, da Escola Superior “Luiz de Queiroz”, pela concessão do microscópio de varredura.

Enfim, agradeço a todos que de alguma maneira estiveram presente, tornando este trabalho possível.

EPÍGRAFE

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

(Theodore Roosevelt)

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO	9
2. DESENVOLVIMENTO	11
2.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.2. MATERIAIS E MÉTODO	17
2.2.1. Relações entre tamanho de sementes, germinação, vigor e desempenho inicial de plântulas de soja	18
2.2.2. Relações entre tamanho e germinação de sementes de soja sob variações na disponibilidade hídrica	23
2.2.3. Procedimento estatístico	24
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
2.3.1. Relações entre tamanho de sementes, germinação, vigor e desempenho inicial de plântulas de soja	25
2.3.2. Relações entre tamanho e germinação de sementes de soja sob variações na disponibilidade hídrica	43
3. CONCLUSÕES	57
REFERENCIAS	58

RESUMO

Relações entre tamanho e potencial fisiológico de sementes de soja sob variações da disponibilidade hídrica

A utilização de sementes com alto potencial fisiológico é de grande importância para a emergência e desenvolvimento inicial das plântulas em campo. O tamanho das sementes é considerado um dos fatores que afetam o potencial fisiológico de sementes de várias espécies, entre elas a soja. Os objetivos do presente trabalho foram avaliar o efeito do tamanho sobre o potencial fisiológico das sementes de soja e verificar até que ponto a disponibilidade hídrica pode influenciar a germinação das sementes de diferentes tamanhos. Foram utilizados dois cultivares de soja (Anta 82 e M7739 IPro), cada um representado por dois lotes com potenciais fisiológicos distintos. As sementes de cada lote foram classificadas em cinco tamanhos, por meio de peneiras de perfurações oblongas com diferença de 0,4 mm na espessura dos crivos. A pesquisa foi executada em duas etapas: a primeira foi conduzida segundo esquema fatorial 2 lotes x 5 tamanhos (M+0,8, M, M-0,8 e <M-0,8), avaliando-se os tratamentos pelos testes de germinação, envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, emergência de plântulas, comprimento e massa da matéria seca de plântulas, análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS[®]), tetrazólio (vigor e viabilidade), determinação da espessura do tegumento por microscopia eletrônica, teor de lignina no tegumento das sementes, além de determinações do teor de água, massa de 1000 sementes e caracterização física das sementes quanto geometria pelo equipamento SAS. A segunda etapa foi conduzida de acordo com esquema fatorial 5 tamanhos x 4 potenciais hídricos do substrato (-0,04, -0,10, -0,20 e -0,40 MPa) e os tratamentos foram avaliados pelos testes de germinação sob variações de disponibilidade hídrica, além de determinação da marcha de absorção de água pelas sementes sob cada potencial hídrico. Os resultados obtidos foram submetidos a análise estatística, com o auxílio do *software* SISVAR. Os resultados indicaram que sementes de soja de tamanhos inferiores, em mais de 0,8 mm (<M-0,8mm), à média do lote apresentam menor potencial fisiológico. A redução do potencial hídrico do substrato diminui a velocidade de germinação das sementes de soja, independentemente do tamanho, além disso, sob média e baixa disponibilidade hídrica (-0,10, -0,20 e -0,40 MPa) sementes de tamanho superior, em mais de 0,8mm (M+0,8 mm) em relação à média apresentam menor porcentagem e velocidade de germinação, e sementes de tamanho médio menos 0,8 mm (M-0,8 mm) tem sua porcentagem e velocidade de germinação menos afetadas pela redução do potencial hídrico.

Palavras-chave: *Glycine max*; Estresse hídrico; Classificação de sementes; Germinação; Vigor

ABSTRACT

Relationships between size and physiological potential of soybean seeds under variations of water availability

The use of seeds with high physiological potential is of great importance for emergence and early development of seedlings in the field. Seed size affects the physiological potential of various species, including soybeans. This study evaluated the effects of size on the physiological potential of soybean seeds and investigated how water availability influences germination of seeds of different sizes. Two soybean cultivars (Anta 82 and M7739 IPro) were used, each represented by two batches with distinct physiological potentials. The seeds of each batch were classified in five sizes using sieves with oblong perforations of 0.4 mm in thickness. The study was performed in two stages. The first was conducted according to factorial scheme 2 batches x 5 sizes (M+0.8, M, M-0.8 and <M-0.8), evaluating treatments by germination tests, accelerated aging with saturated solution of NaCl, emergence of seedlings, length and mass of the dry matter of seedlings, computerized image analysis of seedlings (SVIS[®]), tetrazolium (vigor and viability), determination of integument thickness by electron microscopy, lignin content in seed coat, as well as determinations of the water content, mass of 1000 seeds and physical characterization of seed in terms of geometry using the SAS. The second stage was conducted according to factorial 5 sizes x 4 substrate water potentials (-0.04, -0.10, -0.20 and -0.40 MPa) and the treatments were evaluated by the germination test under water availability variations, in addition to determining the water uptake rate by seeds under each hydric potential. The results were subjected to statistical analysis, using the SISVAR software. Soybean seeds of sizes lower than 0.8 mm (<M-0.8 mm) feature less physiological potential compared to the batch average. The reduction of substrate water potential decreases the germination speed of soybean seeds, regardless of size. Moreover, under low and medium water availability (-0.10, -0.20 and -0.40 MPa), seeds with size higher than 0.8 mm (M+0.8 mm) feature smaller percentage and germination speed in relation to the batch average, while medium-sized seeds, less than 0.8 mm (M-0.8 mm), have percentage and germination speed less affected by reduced water potential.

Keywords: *Glycine max*; Hydric stress; Seed classification; Germination; Vigor

1. INTRODUÇÃO

A utilização de sementes com alto potencial fisiológico é de grande importância para o desenvolvimento inicial das plântulas em campo e consequentemente o estabelecimento de estande adequado. O potencial fisiológico reúne informações sobre a germinação (viabilidade) e o vigor das sementes, sendo que a semente atinge seu máximo potencial por ocasião da maturidade fisiológica; a partir desse ponto geralmente tem início o processo de deterioração. Em muitas espécies, o tamanho das sementes é considerado um dos fatores que afetam o potencial fisiológico das sementes; uma dessas espécies é a *Glycine max* (L) Merrill, a soja.

Considerada um dos produtos agrícolas de maior importância para economia do Brasil, a soja apresenta variação no tamanho das sementes. Isso ocorre devido às características evolutivas que determinam a desuniformidade de florescimento e consequentemente, a formação de sementes sob diferentes condições ambientais. O florescimento da soja (início da fase reprodutiva) ocorre de maneira relativamente desuniforme, permitindo que uma população de plantas apresente variações acentuadas no tamanho das sementes, considerando tanto a mesma planta como indivíduos diferentes; essas variações são ampliadas considerando os efeitos do ambiente.

Na literatura são encontrados vários trabalhos buscando elucidar efeitos do tamanho das sementes de soja sobre o potencial fisiológico; entretanto, há grande variação nos resultados obtidos. Essas variações possivelmente podem estar relacionadas aos critérios adotados para identificar sementes “grandes” e “pequenas”, pois sementes consideradas “grandes” em um cultivar podem corresponder às “pequenas” de outro; além disso, dentro do mesmo cultivar, dependendo das condições ambientais durante a produção, as sementes consideradas “grandes” em uma safra também podem corresponder ao tamanho de sementes “menores” em safra subsequente. O uso do tamanho médio do lote como parâmetro de referencia provavelmente seria mais eficiente nas avaliações das relações entre o tamanho e potencial fisiológico, pois independentemente da ação genótipo/ambiente a distribuição percentual das sementes dentro de uma população pode apresentar maior concentração de sementes próximas ao tamanho médio.

Alguns trabalhos de pesquisa relataram que as relações entre tamanho e potencial fisiológico de sementes de soja podem depender das condições de disponibilidade hídrica durante o processo de germinação. Por isso, além de avaliar o efeito do tamanho das sementes de soja sobre o potencial fisiológico, é de grande importância elucidar até que ponto há influência da disponibilidade de água sobre a germinação e vigor das sementes de diferentes tamanhos, de maneira a se obter resultados que correspondam a possíveis condições ambientais encontradas no campo após a semeadura.

Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram avaliar o efeito do tamanho sobre o potencial fisiológico das sementes de soja e verificar até que ponto a disponibilidade hídrica pode influenciar a germinação das sementes de diferentes tamanhos.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. Revisão bibliográfica

O nível do impacto das adversidades do ambiente sobre a produtividade dos grãos de soja em campo está diretamente relacionado com os atributos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos das sementes utilizadas para a instalação da cultura (POPINIGIS, 1985; SHEEREN et al., 2010). O potencial fisiológico reúne informações sobre germinação (viabilidade) e vigor das sementes; a avaliação segura desse atributo permite identificar com segurança quais lotes de sementes podem apresentar desempenho adequado durante o armazenamento e em campo (MARCOS-FILHO, 2013).

Sementes com alto potencial fisiológico apresentam maiores velocidades nos processos metabólicos, propiciando emissão rápida e uniforme da raiz primária no processo de germinação e maior taxa de crescimento de plântulas (MUNIZZI et al., 2010). O máximo potencial fisiológico das sementes é atingido por ocasião da maturidade e, a partir desse ponto, inicia-se o processo de deterioração. As sementes de soja são muito propensas à deterioração e sensíveis a adversidades durante a maturação e as práticas inadequadas de manejo da colheita, processamento e armazenamento, pois o seu embrião é revestido por um tegumento relativamente frágil, sendo susceptível a danos mecânicos e a ataque de insetos e microrganismos (MARCOS-FILHO, 2013).

Em muitas espécies, entre elas a soja, o tamanho das sementes é considerado um importante indicativo de potencial fisiológico das sementes (WETZEL, 1979; AQUIAR, 1979; TRÉS et al., 2010; BARBOSA et al., 2010; PÁDUA et al., 2010; PLACE et al., 2011; VINHAL-FREITAS et al., 2011; AMBIKA et al., 2014;). O tamanho da semente de soja pode variar tanto entre os cultivares, em razão de fatores genéticos, quanto dentro do cultivar (entre os lotes) sob a influência de vários fatores externos como ataque de insetos e doenças, temperatura, fertilidade do solo, temperatura e disponibilidade hídrica (VINHAL-FREITAS et al., 2011; LIU et al., 2012; AMBIKA et al., 2014). Vários trabalhos de pesquisa estudaram o efeito do tamanho das sementes de soja sobre o potencial fisiológico; no entanto há grande variação nos resultados obtidos.

O comprimento e biomassa de plântulas de soja são características diretamente relacionadas ao vigor das sementes; sementes “grandes” apresentam maior quantidade de material de reserva e apresentam eixo embrionário desenvolvido de maneira adequada; em consequência disso originam plântulas com maior comprimento e biomassa, considerando condições adequadas de disponibilidade hídrica (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Três et al. (2010), utilizando sementes do cultivar CD50519 classificadas em peneiras de crivos circulares de 5,0 e 6,0 mm de diâmetro, verificaram relação diretamente proporcional do tamanho e massa das sementes com o vigor, de maneira que as sementes “grandes” (6,0 mm) apresentaram melhor desempenho; observações semelhantes foram efetuadas por Barbosa et al. (2010), Pádua et al. (2010), Place et al. (2011) e Vinhal-Freitas et al. (2011), utilizando sementes de outros tamanhos e cultivares. Barbosa et al. (2010), por exemplo,

utilizaram sementes do cultivar BRS Tracajá classificadas em peneiras de crivos circulares de 5,5, 6,0 e 6,5 mm de diâmetro; por sua vez, Pádua et al. (2010) utilizaram sementes dos cultivares BRSMG 752S, BRSMG 790A e BRSMG de tamanhos 6,0, 6,5 e 7,0 mm.

Por outro lado, Santos (2005) utilizando sementes de dois cultivares (Splendor e Elite), classificadas em peneiras de crivo circular de diâmetros 5,16, 5,55, 5,95, 6,35 e 6,75 mm, verificou superioridade do potencial fisiológico das sementes de tamanhos intermediários (5,55, 5,95 e 6,35 mm); os piores desempenhos das sementes variaram entre os cultivares, com a inferioridade para sementes “pequenas” (5,16 mm) do cultivar Elite e “grandes” (6,75 mm) do cultivar Splendor, mas vale ressaltar que os autores não especificam qual o tamanho médio das sementes de cada cultivar. Apesar da existência dessas informações, ainda há pesquisas que não verificaram o efeito do tamanho sobre o potencial fisiológico das sementes, entre eles Costa et al. (2004), Santos et al. (2006), Costa (2006), Morrison e Xue (2007), Piccinin et al. (2012), Soares et al. (2015) e Sgarbossa (2016).

As diferenças nos resultados obtidos nas pesquisas buscando esclarecer as relações do tamanho das sementes e potencial fisiológico, podem estar relacionadas aos critérios adotados para identificar sementes “grandes” e “pequenas”. As sementes consideradas “grandes” em um cultivar pode corresponder às “pequenas” de outro; além disso, dentro do mesmo cultivar, dependendo das condições ambientais durante a produção, as sementes consideradas “grandes” em uma safra também podem corresponderem ao tamanho de sementes “médias” ou até “pequenas” em safras subsequentes. Em virtude da grande divergência entre os resultados das pesquisas existentes, é de grande importância a padronização dos critérios para determinação do tamanho adequado de sementes componentes de um lote.

Wetzel (1979) avaliando a distribuição do tamanho de sementes de três linhagens isogênicas de soja (D 65-6792, Lee, D59-2537) verificou que, independentemente da ação genótipo/ambiente, a distribuição percentual das sementes dentro de uma população de soja apresenta o mesmo comportamento, de maneira semelhante a uma curva normal, com maior concentração de sementes próximas ao tamanho médio. Por isso, o uso do valor médio como parâmetro de referência provavelmente será mais eficiente nas avaliações das relações entre o tamanho e potencial fisiológico de sementes e o desempenho de plântulas.

Aguiar (1979) trabalhando com seis lotes de sementes de soja classificadas em peneiras de crivos circulares de 4,37 mm (11/64”), 4,76 mm (12/64”), 5,16 mm (13/64”), 5,56 mm (14/64”), 5,95 mm (15/64”), 6,35 mm (16/64”), 6,75 mm (17/64”) e 7,14 mm (18/64”) de diâmetro, de três cultivares (Bragg, Dare, Lee 68), verificou variações quanto ao tamanho médio dentro de cultivares e de lotes; porém para todos os materiais estudados as sementes retidas na peneira de tamanho médio foram semelhantes ou superiores às demais classes quanto ao potencial fisiológico e as sementes menores apresentaram o pior desempenho. Dessa maneira o autor verificou que as sementes com maior potencial fisiológico estão compreendidas dentro dos limites de $M \pm 0,8$ mm (2/64”) sendo M a largura ou espessura média das sementes que compõem o lote; as sementes de tamanho menor que M-

0,8 mm apresentam os piores desempenhos; observações semelhantes foram relatadas por Wetzel (1979), Beckert, et al. (2000), Rezapour et al. (2013) e Adebisi et al. (2013).

O pior desempenho das sementes de tamanho menor que $M - 0,8$ mm (2/64”) de um lote pode ser explicado pelo fato de representarem aquelas que não tiveram tempo necessário para completar sua maturação de maneira adequada devido à formação tardia (WETZEL, 1979; AGUIAR, 1979; BECKERT et al., 2000; KRISHSAN et al., 2014); sementes originadas de flores mais tardias tendem a acelerar seu desenvolvimento, de modo a atingir a maturidade praticamente ao mesmo tempo que as sementes provenientes das primeiras flores formadas (MARCOS-FILHO, 2015).

Por outro lado, as sementes de tamanho maior que $M + 0,8$ mm (2/64”) geralmente recebem maior quantidade de material de reserva do que as menores durante o desenvolvimento (MARCOS-FILHO, 2015); entretanto, por serem mais pesadas, são mais prejudicadas por danos mecânicos durante e após a colheita; esses danos constituem problemas relacionados à perda do vigor de sementes de soja (KRZYZANOWSKI et al., 1991 COSTA et al., 1999).

O potencial fisiológico pode afetar indiretamente a produção da cultura de soja devido aos reflexos sobre o estande inicial de plântulas em campo (MARCOS-FILHO, 2015); dessa maneira é de extrema importância que a avaliação do potencial fisiológico identifique de maneira confiável os lotes que apresentam maior probabilidade de se estabelecer adequadamente em campo sob ampla variação das condições ambientais. Alguns autores relatam à influência de vários fatores sobre o desenvolvimento de plântulas originadas de sementes de diferentes tamanhos; entre eles destaca-se a disponibilidade hídrica durante o processo de germinação (COSTA et al., 2004; PEREIRA et al., 2013).

Independentemente do tamanho das sementes, a deficiência hídrica causa o prolongamento da fase estacionária, Fase II do processo de embebição da semente, reduzindo a atividade enzimática e o crescimento e desenvolvimento do eixo embrionário, levando ao atraso da protrusão radicular e consequentemente à diminuição da velocidade de germinação (SÁ, 1987; ROSSETTO et al., 1997; COSTA et al., 2004; SILVA et al., 2006; COSTA et al., 2012; PEREIRA et al., 2013; SOARES et al., 2015). A redução do crescimento das plântulas, provocada pelo estresse hídrico, é causada pela redução da expansão celular; ao reduzir a pressão de turgor, o estresse hídrico suprime a expansão e o crescimento celular, afetando o metabolismo, crescimento e estabelecimento das plântulas (JALEEL et al., 2009).

Rossetto et al. (1997) verificaram que sementes submetidas aos potenciais hídricos de -0,20 e -0,40 MPa apresentaram redução da porcentagem de emissão de raiz primária e, consequentemente, diminuição da germinação; além disso, a redução do potencial hídrico a -0,10 MPa minimizou os danos causados pela rápida absorção de água (dano durante a embebição) em sementes com potenciais fisiológicos inferiores, por propiciar um maior tempo para que haja os reparos metabólicos dos componentes celulares, evitando a perda de exsudados.

O uso de sementes com alto potencial fisiológico proporciona rápida emergência de plântulas em campo, principalmente considerando condições de estresse. Sá (1987) avaliando sementes de soja de diferentes níveis de vigor submetidas aos potenciais hídricos de -0,03, -0,20, -0,40 -0,60 e -0,80 MPa verificou que as sementes com maior vigor apresentaram melhor desempenho de plântulas em campo sob alta ou baixa disponibilidade hídrica; e o efeito da redução do potencial hídrico foi mais intenso em sementes com menor vigor. Observações semelhantes foram efetuadas por Rossetto et al., (1997) que verificou o melhor desempenho das sementes de alto vigor.

Por outro lado, a diminuição da velocidade de absorção de água, devido à redução do potencial hídrico para níveis abaixo de -0,20MPa, ocasiona a lenta reestruturação das membranas celulares, aumentando a exsudação de íons, açúcares e ácidos graxos das sementes; isto faz com que as sementes fiquem mais expostas a ataque de patógenos e, conseqüentemente, poderá haver aumento da quantidade de plântulas anormais infectadas (ROSSETTO et al., 1997).

Pereira et al. (2013) avaliando sementes classificadas em peneiras de crivos oblongos de largura e espessura de 4,77mm (12/64”), 5,15 mm (13/64”) e 5,55 mm (14/64”) x 19,5 mm (3/4”) submetidas aos potenciais hídricos de 0, -0,10 e -0,20 MPa, relataram que sob alta disponibilidade hídrica (0 MPa) não houve diferenças entre o desempenho de sementes de diferentes tamanhos quanto às porcentagens de plântulas normais na primeira contagem e na porcentagem final de germinação; porém as sementes de menor tamanho (4,77 x 19,5 mm) originaram plântulas menores. Por outro lado, sob deficiência hídrica (-0,20 MPa), as sementes desse tamanho apresentaram porcentagem média de germinação superior às dos demais tamanhos e originaram plântulas maiores.

O melhor desempenho das sementes “menores”, mas dentro da média, em situações de deficiência hídrica pode estar relacionado ao fato dessas sementes atingirem teores de água superiores às sementes “grandes”, devido a maior área de contato por unidade de massa das sementes “pequenas” quando comparadas às sementes “grandes” (BECKERT et al., 2000; COSTA et al., 2004). Entretanto deve-se levar em consideração não só o tamanho, mas também o potencial fisiológico das sementes, visto que em vários trabalhos como os de Wetzell (1979), Aguiar (1979), Beckert et al., 2000; Rezapour et al. (2013) e Adebisi et al. (2013) indicaram o baixo desempenho das sementes “menores” que compõem o lote.

Beckert et al., (2000) avaliando a marcha de absorção de água de sementes de soja do cultivar BRS-155 classificadas em peneiras de crivos oblongos de dimensões 6,35, 5,55, e 4,75 mm x 19,5 mm, sendo 5,55 x 19 mm as de tamanho médio, verificaram que a intensidade e velocidade de absorção de água pelas sementes é inversamente proporcional ao tamanho e as sementes de tamanho menores em 0,79 mm, em relação ao tamanho médio, apresentaram baixo potencial fisiológico. Os autores relacionaram a rápida absorção de água das sementes “pequenas” (4,75 x 19,5 mm) com o tamanho e o potencial fisiológico apresentado pelas sementes, em função de estarem mais deterioradas, estariam com as membranas mais permeáveis à entrada de água nas primeiras horas da embebição.

A absorção de água pelas sementes ocorre obedecendo a um padrão trifásico (BEWLEY; BLACK, 1994; BECKERT, et al., 2000). A Fase I é caracterizada pela rápida transferência de água do substrato para a semente devido às diferenças entre os potenciais hídricos (Ψ_H), ocorrendo à ativação de mecanismos de reparo, como a reestruturação do sistema de membranas, desorganizado com a secagem ao final da maturação; nessa fase, a estrutura e composição química do tegumento da semente de soja atuam como reguladores da entrada de água (BECKERT, et al., 2000; SOUZA; MARCOS-FILHO, 2001; MIAO et al., 2001; MA et al., 2004; MEYER et al., 2007; MENEZES, 2008; SMÝKAL et al., 2014).

A testa (tegumento) de sementes de soja é formada por quatro camadas distintas: cutícula, epiderme, hipoderme e células parenquimatosas (MIAO et al., 2001; MA et al., 2004; MENEZES, 2008); alguns trabalhos encontrados na literatura relacionam a espessura da camada paliçádica (MA et al., 2004; MENEZES, 2008; CAVARINI et al., 2009) e o teor de lignina da testa com a velocidade de absorção de água (SOUZA e MARCOS-FILHO, 2001; MA et al., 2004; CAVARINI et al., 2009; MERTZ et al., 2009); sendo essas características determinadas geneticamente (MA et al., 2004; QUTOB et al., 2008; SILVA et al., 2008; CAVARINI et al., 2009; MARCOS-FILHO, 2015). As células paliçádicas são as últimas a se formarem (RANATHUNGE et al., 2010) e a lignina é encontrada especificamente nessa camada e nas células em “ampulheta” das sementes de soja.

Além das diferenças na velocidade de absorção de água entre sementes “pequenas” e “grandes”, o melhor desempenho das sementes “pequenas” sob deficiência hídrica, pode ser justificado pelo fato dessas sementes necessitarem de menor quantidade de água para germinar (BECKERT et al., 2000). Na Fase II do processo de absorção de água das sementes ocorre a redução na taxa de absorção, iniciando diversas reações metabólicas preparatórias à Fase III, caracterizada pelo crescimento do eixo embrionário (protrusão radicular). O período de permanência da semente na Fase II dependerá do tempo necessário para atingir o teor de água suficiente para a protrusão radicular (BEWLEY; BLACK, 1994; BECKERT, et al., 2000); que para sementes de soja está entre 50 a 60% de água (BEWLEY; BLACK, 1994; BECKERT, et al., 2000; MEYER et al., 2007; VILELA, et al., 2007; GUIMARÃES, et al., 2008; TOLEDO, 2008; MARCOS-FILHO, 2015). As sementes “grandes” receberam uma maior quantidade de material de reserva do que as sementes “pequenas” durante a transferência de matéria seca da planta (MARCOS-FILHO, 2015); dessa maneira as sementes “grandes” necessitam de maior quantidade de água para atingirem teores necessários à protrusão radicular, quando comparadas as sementes “pequenas”, conforme salientaram Beckert, et al. (2000).

A água geralmente é um fator limitante para o processo de germinação de sementes, afetando a porcentagem, velocidade e uniformidade do processo (MARCOS-FILHO, 2015). Sabendo que o efeito do tamanho da semente de soja podem depender da disponibilidade hídrica, se torna necessário esclarecer até que ponto isso pode interferir no desempenho das sementes em campo. No entanto,

primeiramente é necessário conhecer quais as relações entre tamanho e potencial fisiológico de sementes de disponibilidade hídrica adequada.

Nos trabalhos de pesquisa que avaliam relações entre tamanho e potencial fisiológico sob variação da disponibilidade hídrica são comumente verificados o uso testes aplicadas na determinação de germinação e vigor das sementes de soja, entre eles os de germinação, tetrazólio, envelhecimento acelerado tradicional, emergência, comprimento e massa seca de plântulas. Marcos-Filho et al., (2000) avaliando as possíveis relações entre efeitos da utilização de sementes de soja com diferentes tamanhos nos resultados do teste de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl verificaram que o uso de solução salina tornou o teste de envelhecimento acelerado menos severo, mas não reduziu sua eficiência em relação ao procedimento tradicional. Além disso verificaram que esse teste, em sementes de soja, fornece informações mais consistentes quando as amostras comparadas são constituídas por sementes de tamanho uniforme. Porém independentemente dessas observações, para que haja confiabilidade nos resultados obtidos nesse teste é necessário verificar a uniformidade das condições de umidade durante o teste; a determinação do teor de água das sementes pós envelhecimento é o principal indicador dessa uniformidade, de maneira que são toleráveis variações de 3 a 4% entre amostras (MARCOS-FILHO, 1999).

Os testes baseados no desempenho de plântulas como comprimento e biomassa de plantas ou de suas partes (raiz primária e hipocótilo) apresentam resultados coerentes com o seu desempenho em campo, sendo essas determinações ferramentas eficientes na determinação de diferenças no potencial fisiológico de lotes de sementes de soja (NAKAGAWA, 1999; VANZOLINI et al., 2007).

Além das determinações comumente empregadas na avaliação de efeitos do tamanho no potencial fisiológico de sementes de soja, existem testes rápidos e confiáveis que podem auxiliar nessa investigação. A análise de imagem de plântulas seria uma opção válida, pois vários trabalhos de pesquisa comprovaram a eficiência desse sistema em detectar diferenças no vigor de sementes de soja (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS-FILHO et al., 2009; YAGUSHI, 2011; WENDT et al., 2014), inclusive quando os materiais avaliados apresentaram alto poder germinativo.

Dessa maneira existem várias ferramentas eficientes para auxiliar na investigação dos possíveis efeitos do tamanho no potencial fisiológico das sementes de soja sob variações da disponibilidade hídrica; no entanto na maioria dos trabalhos de pesquisa encontrados na literatura não há padronização das classes de tamanho, ou seja, não levam em consideração as possíveis influências do cultivar e das condições ambientais de cultivo. O uso do tamanho médio (M) das sementes de lote como parâmetro para a classificação das sementes pode ser uma alternativa eficiente para diminuir a influência do cultivar e das condições de cultivo.

2.2. Materiais e Método

Foram utilizadas nesta pesquisa sementes dos cultivares Anta 82RR e M7739IPro produzidas pela empresa Sementes Adriana. As do cultivar Anta 82RR foram processadas na Unidade de Beneficiamento de Sementes (UBS) da empresa Produsoja, município Pedra Preta – MT e as do cultivar M7739IPro, na UBS de Sementes Adriana, município Alto Garça – MT.

Utilizaram-se dois lotes de sementes para cada cultivar. Inicialmente quatro amostras de 3kg de sementes de cada lote e cultivar foram submetidas a um conjunto de peneiras de chapa metálica com perfurações oblongas com variações de 1/64 polegada (0,4 mm) na largura dos crivos, para a determinação da porcentagem de retenção das sementes nas peneiras, com base no peso das sementes que permaneceram em cada uma delas (Tabela 1).

Os tratamentos, conforme mostram a Tabela 2 e a Figura 1, foram constituídos por sementes de tamanho médio (M), representando as peneiras correspondentes às maiores porcentagens de retenção, em cada cultivar e lote, as sementes retidas nas peneiras com crivos M+0,8 mm, M-0,8 mm e as retidas em crivos da peneira imediatamente inferior a M-0,8 mm. Sementes da amostra original, não classificada, representaram a testemunha.

Após a classificação as sementes constituintes de cada tratamento foram homogeneizadas em homogeneizador mecânico, embaladas em papel multifoliado e armazenadas em câmara fria e seca a 10 °C e 30% umidade relativa do ar (UR) durante todo o período experimental.

Tabela 1. Porcentagens (%) de retenção de sementes em peneiras de chapa metálica com perfurações oblongas com variação de 1/64 polegada (0,4 mm) na largura dos crivos.

Peneira	CV. Anta 82RR		CV. M7739IPro	
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4
16/64" x 3/4"(6,35 x 19,50mm)	>0,1	>0,1	1,3	2,0
15/64" x 3/4"(5,95 x 19,50mm)	2,4	2,7	21,6	26,6
14/64" x 3/4"(5,55 x 19,50 mm)	18,3	19,7	41,1	40,3
13/64" x 3/4"(5,15 x 19,50 mm)	45,5	38,8	27,0	24,6
12/64" x 3/4" (4,77 x 19,50mm)	24,7	24,9	7,0	5,2
11/64" x 3/4"(4,37 x 19,50 mm)	8,4	12,6	2,1	1,2
10/64" x 3/4"(3,96 x 19,50 mm)	0,7	1,3	0,1	0,2

Tabela 2. Descrição dos tratamentos.

Tratamentos	CV. Anta 82 RR	CV. M7739IPro
Testemunha	-	-
M +0,8	5,95 x 19,50 mm (15/64 x 3/4")	6,35 x 19,50 mm (16/64 x 3/4")
M ¹	5,15 x 19,50 mm (13/64 x 3/4")	5,55 x 19,50 mm (14/64 x 3/4")
M-0,8	4,37 x 19,50 mm (11/64 x 3/4")	4,77 x 19,50 mm (12/64 x 3/4")
< M-0,8	3,96 x 19,50 mm (10/64 x 3/4")	4,37 x 19,50 mm (11/64 x 3/4")

¹ Tamanho médio das sementes de cada lote.

Figura 1. Imagens das sementes constituintes dos tratamentos (tamanhos: M+0,08 mm, M mm, M-0,8 mm e < M-0,8 mm) do cultivar Anta 82RR e M7739IPro

Após a obtenção dos tratamentos, as sementes foram embaladas em sacos de papel multifoliado e transportadas para o Laboratório de Sementes do Departamento de Produção Vegetal, Escola Superior “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP/ESALQ), em Piracicaba- SP.

A pesquisa foi conduzida em instalações do Laboratório de Análise de Sementes, Laboratório Análise de Imagens e Núcleo de Apoio a Pesquisa em Microscopia Eletrônica, da Escola Superior “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP/ESALQ) /Piracicaba – SP, no Laboratório de Fisiologia Sementes e Laboratório de Química de Sementes, do Núcleo de Tecnologia de Sementes e Grãos da Embrapa Soja /Londrina – PR, e no Laboratório de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA)/Lavras – MG, em duas etapas. Na primeira, foram conduzidos testes para avaliar as possíveis relações entre tamanho de sementes, germinação, vigor e desempenho inicial de plântulas de soja e, na segunda, testes para avaliar o desempenho inicial de plântulas sob variações na disponibilidade hídrica.

2.2.1. Relações entre tamanho de sementes, germinação, vigor e desempenho inicial de plântulas de soja

Para o estudo das possíveis relações entre tamanho de sementes, germinação, vigor e desempenho inicial de plântulas de soja foram realizadas as determinações descritas a seguir.

2.2.1.1. Teor de água

Determinado pelo método de estufa a 105 °C (± 3 °C), durante 24 horas (Brasil, 2009), antes da instalação dos testes de laboratório e após o teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl. A média dos resultados foi expressa em porcentagem (base úmida), para cada tratamento, lote e cultivar.

2.2.1.2. Massa de 1000 sementes

Determinada conforme recomendações de Brasil (2009), utilizando oito repetições de 100 sementes de cada tratamento, lote e cultivar, pesadas em balança com precisão de 0,001 g. A média dos resultados foi expressa em gramas para cada tratamento, lote e cultivar.

2.2.1.3. Caracterização física das sementes

Foi conduzida em equipamento GroundEye versão S120 composto por módulo de captação das imagens, bandeja para colocação das sementes e *software* de análise das imagens. Foi utilizado na calibração da coloração de fundo da imagem o sistema de cor CIEL *a*b, com variação na luminosidade de 0,0 a 100,0, variação na dimensão *a de -20,7 a 39,3 e variação na dimensão *b de -594 a -2,9.

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento, lote e cultivar. As sementes foram fixadas em placa de acetato com o auxílio de fita dupla face, com o hilo posicionado para cima e inseridas na bandeja do equipamento para à obtenção da imagem das sementes. Essas imagens foram armazenadas em arquivos e analisadas de maneira simultânea pelo *software* do equipamento. Posteriormente, foram gerados relatórios contendo os valores médios de cada imagem para as características de área (mm²), diâmetro máximo (mm), diâmetro mínimo (mm) e perímetro (mm) das sementes de cada tratamento, lote e cultivar.

2.2.1.4. Germinação

Conduzida com quatro repetições de 50 sementes, em rolos de papel-toalha umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel, a 25°C. As contagens foram realizadas no quinto (**primeira contagem de germinação**) e oitavo dia após a semeadura. A interpretação foi efetuada de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e, os resultados, expressos em porcentagem média de plântulas normais para cada tratamento, lote e cultivar.

2.2.1.5. Envelhecimento acelerado com solução saturada de sal (NaCl)

Sementes de cada tratamento, lote e cultivar foram distribuídas em camada única de modo a cobrir completamente a superfície da tela metálica posicionada no interior de caixa de plástico transparente (11x 11x 3,5 cm), contendo 40mL de solução saturada de NaCl (40g/100 mL de água); isto permitiu estabelecer ambiente interno com aproximadamente 76% de UR. As caixas foram tampadas e mantidas em câmara a 41°C durante 48 horas (MARCOS-FILHO et al., 2000); decorrido este período, foi conduzido teste de germinação conforme descrito no item anterior. As avaliações foram realizadas no quinto dia após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais para cada tratamento, lote e cultivar.

2.2.1.6. Emergência de plântulas

Utilizaram-se quatro repetições de 50 sementes por tratamento, lote e cultivar. O teste foi conduzido em substrato constituído pela mistura areia e solo na proporção de 3:1 (volumes) respectivamente, colocadas em caixa de plástico (47 cm x 30cm x 11 cm). Em cada caixa foram distribuídas quatro repetições de 50 sementes; após a semeadura foi realizado o umedecimento do substrato com quantidade de água equivalente a 60% da capacidade de retenção de água. As caixas de plástico foram mantidas em ambiente normal de laboratório e, as leituras, realizadas diariamente computando-se o número de plântulas emergidas. Foram calculados **índices médios de velocidade de emergência de plântulas** (MAGUIRE, 1962) e as porcentagens médias de emergência de plântulas para cada tratamento, lote e cultivar.

2.2.1.7. Tetrazólio

Foram utilizadas duas repetições de 50 sementes, cada uma pré-condicionada em papel toalha umedecido em água, a 25 °C, por 16 horas. Após este período, as sementes foram transferidas para copos de plástico (50 mL) contendo solução de cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazólio a 0,075% e mantidas em estufa a 40 °C durante 180 minutos. Em seguida, as sementes foram lavadas em água corrente, submersas em água no interior de copinhos de plástico e mantidas em refrigerador até o momento da avaliação. As avaliações foram conduzidas seccionando longitudinalmente cada semente, sendo a interpretação realizada segundo o critério descrito por França Neto et al. (1999). Os resultados foram expressos em porcentagem média de sementes vigorosas (classes 1 a 3) e viáveis (classes 1 a 5) para cada tratamento, lote e cultivar.

2.2.1.8. *Análise de imagens de plântulas (SVIS®)*

Foi conduzida com quatro repetições de 25 sementes por tratamento, lote e cultivar. As sementes foram distribuídas em duas fileiras horizontais, situadas no terço superior da superfície do papel toalha previamente umedecido. Em seguida, os rolos de papel toalha foram transferidos para câmara de germinação regulada a 25 °C e mantidos durante três dias. Após este período, as plântulas foram ordenadas sobre uma folha de cartolina preta, disposta sobre a superfície de uma caixa de alumínio (60x 50x 12 cm), contendo em seu interior um *scanner* HP Scanjet 2004, montado de maneira invertida e operado por *software* Photosmart, com resolução de 100 dpi. As imagens das plântulas foram digitalizadas e, em seguida, analisadas pelo *software* SVIS®, sendo computados dados referentes ao comprimento de plântulas (cm) e índices de vigor e uniformidade.

O índice de vigor foi gerado pela combinação dos parâmetros de crescimento (70% de contribuição) e uniformidade (30% de contribuição), ambos baseados no comprimento máximo estimado de plântulas de soja (15,24 cm) aos três dias após a semeadura; os valores do índice de vigor e uniformidade variam entre 0 a 1000 e são diretamente proporcionais ao vigor. Os resultados foram expressos pelos valores médios obtidos para cada tratamento, lote e cultivar.

2.2.1.9. *Comprimento de plântulas*

Foram utilizadas cinco repetições de 20 sementes por tratamento, lote e cultivar. O substrato papel toalha foi previamente umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a sua massa seca e, posteriormente, as sementes foram distribuídas lado a lado no terço superior do papel toalha, e com o hilo voltado para a parte inferior do papel. Os rolos foram acondicionados em sacos de plástico e posicionados verticalmente no germinador, durante sete dias a 25 °C (NAKAGAWA, 1999). Ao final deste período, foram efetuadas as mensurações da raiz primária e hipocótilo, com o auxílio de régua graduada em centímetro (cm). Os resultados médios foram expressos em cm/plântula para cada tratamento, lote e cultivar.

2.2.1.10. *Massa seca de plântulas*

Foram utilizadas as plântulas obtidas na avaliação do comprimento de plântulas descrita em 2.1.9. As plântulas de cada repetição, após a retirada dos cotilédones com auxílio de lâmina, foram embaladas em saco de papel e mantidas em estufa com circulação forçada de ar, a 80 °C, por 24 horas (NAKAGAWA, 1999). Após este período, cada repetição teve a massa avaliada em balança com precisão de 0,001g e os resultados médios foram expressos em mg/plântula para cada tratamento, lote e cultivar.

2.2.1.11. Teor de lignina do tegumento das sementes

As determinações do teor de lignina do tegumento foram realizadas pelo método espectrofotométrico acetilbromida, com absorbância no comprimento de onda de 280µm (Ultra Vermelho-UV), no espectrometro Thermo Scientific Modelo Genesys 6 (MOREIRA-VILAR, 2014).

Foram utilizadas 100g de sementes para cada tratamento, lote e cultivar. As sementes foram imersas em água por 12 horas e, em seguida, o tegumento de cada semente foi retirado e colocado para secar em estufa a 60 °C até peso constante. Os tegumentos foram resfriados em dessecador a vácuo e, em seguida, triturados e pesados, para então serem avaliados quanto ao teor de lignina.

As biomassas secas dos tegumentos (0,3 g) foram homogeneizadas em 7 mL de tampão fosfato de sódio e potássio (50 mM, pH 7,0) e transferidas para tubos de centrífuga de 15 mL (FERRARESE et al., 2002). O precipitado foi centrifugado (1.400g, 5 min) sucessivamente mais 2 vezes com 7 mL de tampão fosfato (50 mM, pH 7,0); 3 vezes com 1% (v/v) Triton® em tampão fosfato pH 7,0 (7 mL); 2 vezes com 1 M NaCl em tampão pH 7,0 (7 mL); 2 vezes com água destilada (7 mL); e 2 vezes com acetona (5 mL). O precipitado foi secado em estufa (60 °C, 24 horas) e resfriado em dessecador a vácuo. A massa seca foi definida como a fração da parede celular livre de proteínas.

As amostras (20 mg) de parede celular, isenta de proteínas, foram acondicionados em tubos de ensaio de vidro. Em seguida, foram adicionados 0,5 mL do reagente acetilbromida 25% (preparado em ácido acético gelado). Os frascos foram aquecidos por 30 minutos em banho-maria a 70 °C. Após este procedimento, as amostras foram resfriadas em banho de gelo e a reação foi interrompida com a adição de 0,9 mL de NaOH 2M. Em seguida, foram adicionados 0,1 mL de hidroxilamina-HCl, 5 M e 2 mL de ácido acético gelado. As amostras foram centrifugadas (1.000g durante 5 minutos) e o sobrenadante diluído foi utilizado para as leituras em espectrofotômetro a 280 µm. A concentração de lignina foi determinada de acordo com uma curva padrão e expressa em miligrama (mg) por grama (g) de parede celular para cada tratamento, lote e cultivar.

2.2.1.12. Espessura da camada das células paliçádicas da testa dos tegumentos das sementes (Microscopia Eletronica de Varredura-MEV)

Dez sementes de cada tratamento (exceto testemunha), lote e cultivar foram refrigeradas com nitrogênio líquido e, em seguida, cortadas transversalmente com o auxílio de um bisturi. Cada secção da semente foi fixada em suporte tipo stub com auxílio de fita de carbono dupla face e levada a evaporador, modelo BALZERS SCD 050, para ser metalizada com ouro paládio. Posteriormente foram realizadas as observações das secções das sementes em microscópio eletrônico de varredura, modelo LEO 435 VP. Foi selecionada uma imagem representativa das sementes de cada tratamento, lote e cultivar realizando a mensuração da espessura da camada das células paliçádicas da testa. As

medidas micrômetro (μm) foram obtidas com o auxílio do *software Leo User Interface* disponível no próprio microscópio eletrônico de varredura (ALVES, 2006).

2.2.2. Relações entre tamanho e germinação de sementes de soja sob variações na disponibilidade hídrica

Para o estudo das relações entre tamanho de sementes e desempenho inicial de plântulas sob variações na disponibilidade hídrica foi avaliado o comportamento de sementes expostas a potenciais hídricos do substrato de -0,04 , -0,10 , -0,20 e -0,40 MPa. Foi utilizado como substrato o papel toalha previamente umedecido com soluções aquosas de polietilenoglicol com peso molecular 6000 (PEG 6000), em concentrações suficientes para a obtenção de cada potencial hídrico; as quantidades de soluto foram definidas com base na fórmula estabelecida por Michel e Kaufmann (1973), conforme Villela et al. (1991), para temperatura de 25 °C (Tabela 3).

Tabela 3. Quantidade de soluto para obtenção de cada potencial hídrico pré-estabelecido.

Potenciais hídricos (MPa)	Soluções aquosas (g PEG 6000/ kg de água destilada)
-0,04	35,55
-0,10	78,49
-0,20	119,34
-0,40	178,34

2.2.2.1. Marcha de absorção de água das sementes sob variações na disponibilidade hídrica

O estudo da curva de embebição das sementes sob cada potencial hídrico foi conduzido conforme Rossetto et al. (1997), com três repetições de 25 sementes previamente pesadas em balança eletrônica Gehaka, modelo BG 440, com precisão de 0,001 g, para cada tratamento, potencial hídrico e cultivar. Para o conhecimento da quantidade inicial de água foi determinado o teor de água das sementes conforme 2.1.1.

As sementes de cada repetição foram distribuídas entre duas folhas de papel toalha, umedecidas com 20 mL da solução de PEG 6000, de acordo com cada potencial hídrico planejado (-0,04, -0,10, -0,20 e -0,40 MPa). As camadas de papel toalha foram colocadas sobre tela metálica, posicionada no interior de caixa de plástico transparente (11 x 11x 3,5), contendo 40 mL de água destilada. As caixas foram tampadas e mantidas em câmara de germinação, a 25 °C. Para calcular a quantidade de água absorvida, as sementes foram retiradas da câmara e pesadas em intervalos de 60

minutos durante 24 horas e, posteriormente, em intervalos de 2 horas até a emissão da raiz primária de no mínimo 5 sementes. Os resultados foram expressos graficamente em kg de água/kg de sementes, em cada período de embebição, para cada tratamento, potencial hídrico e cultivar, levando em consideração o teor de água inicial das sementes.

2.2.2.2. Germinação sob variações na disponibilidade hídrica

Conduzido com quatro repetições de 50 sementes, em rolos de papel-toalha umedecidos com solução de PEG 6000 a -0,04, -0,10, -0,20 e -0,40 MPa na proporção de 2,5 vezes a massa do papel. Após a semeadura, os rolos foram acondicionados em sacos de plástico, posicionados verticalmente na câmara de germinação, a 25 °C. As contagens foram realizadas no quinto (**primeira contagem de germinação**) e oitavo dia após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais para cada tratamento, potenciais hídricos e cultivar.

2.2.2.3. Emissão de raiz primária

A avaliação da emissão de raiz primária sob cada potencial hídrico do substrato foi conduzida em conjunto com o teste de germinação sob variações na disponibilidade hídrica do substrato descrito anteriormente. As leituras foram realizadas diariamente, computando o número de sementes que emitiram raiz primária, até o quinto dia após a semeadura. Foram calculados o **índice médio de velocidade de emissão de raiz primária**.

2.2.3. Procedimento estatístico

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, separadamente para cada cultivar e teste. Para as avaliações do estudo das relações entre tamanho de sementes, germinação, vigor e desempenho inicial de plântulas de soja, os dados obtidos foram submetidos a análise da variância, em esquema fatorial 2 X 5 compreendendo lotes e tamanhos, respectivamente, para cada cultivar. Para as avaliações do estudo das relações entre tamanho de sementes e desempenho inicial de plântulas sob variações na disponibilidade hídrica, foi utilizado o esquema fatorial de 5 x 4 ,compreendendo tamanhos e potenciais hídricos, respectivamente, para cada cultivar. A comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$) e à avaliação da marcha de absorção de água das sementes foram submetidos à análise de regressão poligonal com o auxílio do *software SISVAR* (FERREIRA, 2003).

Tabela 4. Esquema da análise da variância para os testes realizados em laboratório: germinação (G), envelhecimento acelerado com solução saturada de sal (EASS), emergência de plântulas (E), análise de imagens de plântulas (SVIS), tetrazólio, comprimento e massa seca de plântulas (Cresc. de Plântulas) e teor de lignina.

Causas de Variação	G, EASS, E e SVIS	Tetrazólio	Cresc. de Plântulas	Teor de lignina
Tamanhos (T)	4	4	4	4
Lotes (L)	1	1	1	1
T x L	4	4	4	4
Resíduo	30	10	40	20
Total	39	19	49	29

Tabela 5. Esquema da análise da variância para os testes realizados em laboratório: marcha de absorção de água, germinação e emissão de raiz primária sob variações na disponibilidade hídrica.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	
	Marcha de absorção	G e Emissão de raiz
Tamanhos (T)	4	4
Potenciais hídrico (L)	3	3
T x P	12	12
Resíduo	100	140
Total	119	159

2.3. Resultados e Discussão

2.3.1. Relações entre tamanho de sementes, germinação, vigor e desempenho inicial de plântulas de soja

2.3.1.1. Cultivar Anta 82RR

A variação no teor de água inicial das sementes do cultivar Anta 82RR foi de 0,1 ponto percentual (11,0 a 11,1%), considerada adequada para a obtenção de resultados consistentes nos testes conduzidos (MARCOS-FILHO, 2015). As sementes de maior tamanho (M+0,8) apresentaram superioridade da massa de mil sementes, em relação às de tamanho igual ou inferior à média de cada lote (M, M-0,8 e <M-0,8), ou seja, houve relação diretamente proporcional entre o tamanho das sementes e sua massa (Tabela 6). Isso deve ter ocorrido porque, as sementes maiores geralmente recebem maior quantidade de material de reserva que as sementes menores durante a transferência de matéria seca da planta (MARCOS-FILHO, 2015). A soja apresenta período de florescimento relativamente prolongado; as sementes menores de uma população geralmente são formadas a partir da fecundação de óvulos provenientes de florescimento mais tardio, de modo que o período de transferência de matéria seca durante o desenvolvimento dessas sementes é abreviado, em comparação ao das formadas a partir das etapas iniciais do florescimento (MARCOS FILHO, 2015). As amostras

do tratamento testemunha (não classificado) apresentaram massa de 1000 sementes semelhante às de sementes de tamanho médio (M).

Na tabela 7 são apresentados os valores médios referentes à área, diâmetro máximo, diâmetro mínimo e perímetro das sementes dos diferentes tratamentos e lotes do cultivar Anta 82RR. As sementes retidas na peneira M+0,8 de ambos os lotes apresentaram maiores valores para área, diâmetro (máximo e mínimo) e perímetro que as sementes dos demais tamanhos (M, M-0,8, <M-0,8); e, dentro de cada tamanho, os lotes apresentaram valores semelhantes para todas as variáveis analisadas. Com esses resultados foi possível comprovar a eficiência do processo de separação das sementes por tamanho, em peneiras de perfuração oblonga, pois a média do diâmetro mínimo referente cada tamanho avaliado (M+0,8, M, M-0,8 e <M-0,8) correspondeu à largura do crivo da peneira equivalente. Por exemplo, as sementes do tratamento M (peneira de 5,15 x 19,5 mm) do lote 2, apresentaram diâmetro mínimo de 5,3 mm, conforme essa determinação. Consequentemente, as determinações desses parâmetros permitiram caracterizar, com segurança, os tratamentos planejados.

Tabela 6. Cultivar Anta 82RR: teor de água (TA) e massa de 1000 de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	TA (%)		Massa de 1000 sementes (g)	
	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2
Test.	11,1	11,0	131,15	135,50
M+0,8 (5,95 x 19,5 mm)	11,0	11,0	183,40	188,30
M (5,15 x 19,5 mm)	11,1	11,1	138,30	140,26
M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	11,0	11,0	88,87	92,28
<M-0,8 (3,96 x 19,5 mm)	11,0	11,1	74,65	80,87

Tabela 7. Cultivar Anta 82RR: área (A), diâmetro máximo (DMa), diâmetro mínimo (DMi) e perímetro (P) de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	A (mm ²)		DMa (mm)		DMi (mm)		P(mm)	
	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2
Test.	25	26	6,4	6,4	5,0	5,0	17,4	17,2
M+0,8 (5,95 x 19,5 mm)	32	34	7,0	7,4	5,9	5,9	20,8	21,0
M (5,15 x 19,5 mm)	27	27	6,5	6,7	5,2	5,3	18,8	18,7
M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	19	20	5,6	5,8	4,4	4,4	15,7	15,7
<M-0,8 (3,96 x 19,5 mm)	17	18	5,3	5,6	4,1	4,1	15,1	15,5

As sementes do cultivar Anta 82RR apresentaram germinação superior ao padrão mínimo estabelecido para a comercialização de sementes de soja (≥ 80) (BRASIL, 2013). Não foi detectada diferença significativa entre os tamanhos e entre lotes, exceto para o lote 1, com inferioridade para as sementes dos tamanhos $M+0,8$ e $<M-0,8$ (Tabela 8); essa diferença estatística pode ser considerada, do ponto de vista prático, menos importante por se tratarem de materiais com alto poder germinativo; no entanto, confirmou a possível inferioridade do desempenho de sementes de tamanho inferior a ($M-0,8$ mm) destacada por vários autores, dentre os quais Wetzell (1979), Aguiar (1979), Beckert et al. (2000), Rezapour et al. (2013) e Adebisi et al. (2013). Nas avaliações da primeira contagem do teste de germinação, porcentagem e índice de velocidade de emergência de plântulas e no teste de tetrazólio 1-3 (vigor) e 1-5 (viabilidade) não foram detectadas variações significativas no desempenho das sementes dos diferentes tamanhos e lotes do cultivar Anta 82RR (Tabelas 8 e 9). No entanto, o teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl também detectou inferioridade do vigor das sementes correspondentes ao tamanho $<M-0,8$ para os dois lotes, confirmando os resultados do teste de germinação (Tabela 8); no entanto, por mais que o tamanho $M-0,8$ apresentou maior valor numérico de plântulas normais no teste, não houve consistência na identificação do tamanho que determinou desempenho superior no teste de envelhecimento acelerado. Para que haja confiabilidade nos resultados obtidos no teste de envelhecimento acelerado é necessário verificar a uniformidade das condições ambientais durante a condução do teste; a determinação do teor de água das sementes é o principal indicador dessa uniformidade, de maneira que são toleráveis variações de 3 a 4% entre amostras (MARCOS-FILHO, 1999). O teor de água das sementes do cultivar Anta 82RR, após o envelhecimento acelerado, variou de 12,1 a 12,4% entre os tratamentos e os lotes, valores adequados para a obtenção de resultados consistentes. A ausência de diferenças acentuadas entre as sementes dos tratamentos avaliados pode ser atribuída ao elevado potencial fisiológico dos materiais estudados.

Mesmo se tratando de sementes com alto potencial fisiológico, foi possível verificar claramente o menor potencial fisiológico das sementes de tamanho $<M-0,8$ do lote 1, pois, além de serem classificadas como de menor vigor pelo teste de envelhecimento acelerado, nas determinações de primeira contagem do teste de germinação e porcentagem e índice de velocidade de emergência de plântulas, essas sementes apresentaram numericamente os menores valores comparados aos demais tamanhos. O baixo potencial fisiológico das sementes “menores” ($<M-0,8$) de um lote de sementes pode ser explicado pelo fato de ser encontrada nessa fração do lote a maior porcentagem de sementes mal formadas (WETZEL, 1979; AGUIAR, 1979; BECKERT et al., 2000; KRISHSAN et al., 2014), causadas principalmente pelo menor período para sua maturação, ou seja, sementes “menores” são originadas de flores tardias que possivelmente tendem a acelerar o seu desenvolvimento para atingir a maturidade ao mesmo tempo que as sementes “maiores” (MARCOS-FILHO, 2015).

Tabela 8. Cultivar Anta 82RR: germinação (G), primeira contagem (1ª C), envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (EASS), emergência de plântulas (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	G (%)		1ª C (%)		EASS(%)		E(%)		IVE(%)	
	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2
Test.	95 Aa	96 Aa	93 Aa	94 Aa	91 Bb	98 Aa	93 Aa	97 Aa	9,4 Aa	9,7 Aa
M+0,8 (5,95 x 19,5 mm)	90 Ba	95 Aa	89 Aa	95 Aa	92 Ba	94 Ba	95 Aa	96 Aa	9,4 Aa	9,7 Aa
M (5,15 x 19,5 mm)	95 Aa	97 Aa	92 Aa	97 Aa	90 Bb	96 Ba	95 Aa	95 Aa	9,5 Aa	9,5 Aa
M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	94 Aa	98 Aa	94 Aa	98 Aa	95 Ab	99 Aa	96 Aa	96 Aa	9,5 Aa	9,6 Aa
<M-0,8 (3,96 x 19,5 mm)	88 Bb	98 Aa	85 Aa	96 Aa	90 Bb	93 Ba	90 Ab	98 Aa	9,1 Ab	9,9 Aa
CV(%)	4,6		5,2		2,5		3,9		3,5	

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Tabela 9. Cultivar Anta 82RR: teste de tetrazólio 1-3 (vigor) e tetrazólio 1-5 (viabilidade) de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	Vigor (%)		Viabilidade (%)	
	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2
Test.	94 Aa	85 Bb	96 Aa	93 Aa
M+0,8 (5,95 x 19,5 mm)	94 Aa	92 Aa	97 Aa	98 Aa
M (5,15 x 19,5 mm)	94 Aa	92 Aa	98 Aa	96 Aa
M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	93 Aa	92 Aa	92 Aa	96 Aa
<M-0,8 (3,96 x 19,5 mm)	95 Aa	94 Aa	97 Aa	96 Aa
CV(%)	4,1		3,7	

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Na análise de imagens de plântulas pelo SVIS[®] foram identificadas diferenças significativas apenas entre os tamanhos de sementes componentes do lote 1, com a inferioridade do índice médio de vigor e comprimento de plântulas para o tamanho <M-0,8 (Tabela 10). Vários trabalhos de pesquisa comprovaram a eficiência desse sistema para detectar diferenças no vigor de sementes de soja (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS-FILHO et al., 2009; YAGUSHI, 2011; WENDT et al., 2014), inclusive quando os materiais avaliados apresentaram alto poder germinativo. Essas observações também foram confirmadas na presente pesquisa, pois as análises SVIS[®] detectaram diferenças significativas entre índice de vigor e comprimento de plântulas, dentro do lote 1, mesmo se tratando de sementes com alto potencial germinativo. Por mais que dentro do lote 2 não tenham sido identificadas diferenças estatísticas, sementes correspondentes ao tamanho <M-0,8 apresentaram, numericamente, o menor índice médio de vigor do que as dos demais tamanhos. Dessa maneira, foi possível verificar tendência consistente para o pior desempenho das sementes de tamanho <M-0,8 nas determinações componentes da análise de imagens de plântulas pelo SVIS[®], sendo esses resultados comparáveis aos obtidos no teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (Tabela 8).

Os resultados obtidos nas determinações do comprimento e massa seca de plântulas dos lotes do cultivar Anta 82RR são apresentados na Tabela 11. Houve diferenças no comprimento médio do hipocótilo de plântulas apenas para os tamanhos dentro do lote 1, com inferioridade para os tamanhos M+0,8 e <M-0,8. As sementes de tamanho <M-0,8, de ambos os lotes, originaram plântulas com menores valores médios para o comprimento de raiz primária comparadas às sementes dos demais tamanhos; os resultados referentes ao comprimento total das plântulas foram coerentes com os resultados obtidos para o comprimento médio de hipocótilo e raiz primária, com menores valores para os tamanhos M+0,8 e <M-0,8 do lote 1 e do tamanho <M-0,8 do lote 2. As determinações de massa seca de plântulas ou de suas partes detectaram superioridade dos valores médios em plântulas originadas das sementes de tamanho igual ou maior que a média (M e M+0,8), quando comparadas às sementes “menores” (M-0,8 e <M-0,8). Dessa maneira foi possível verificar relação diretamente proporcional entre tamanho da semente e a massa das plântulas do cultivar Anta 82RR. Esses resultados não surpreenderam, pois as sementes “maiores” (M+0,8 e M) apresentam maior quantidade de material de reserva, consequentemente originam plântulas com quantidades maiores de biomassa, comparadas as sementes “menores” (M-0,8 e <M-0,8), considerando condições adequadas de disponibilidade hídrica (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Os resultados do comprimento médio e biomassa de plântulas foram coerentes com os verificados no teste de germinação, envelhecimento acelerado, índice de vigor e comprimento de plântulas avaliados no SVIS[®], pois essas determinações também identificaram o pior desempenho de sementes de tamanho <M-0,8 (Tabelas 8 e 10).

Tabela 10. Cultivar Anta 82RR: comprimento de plântulas ao terceiro dia (CP 3º dia) após a semeadura, índice de uniformidade (IU) e índice de vigor (IV) de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura, obtidas no equipamento pelo SVIS®.

Tratamento	CP 3º dia (cm)		IU		IV	
	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2
Test.	7,5 Ba	7,9 Aa	868 Aa	867 Aa	755 Ba	790 Aa
M+0,8 (5,95 x 19,5 mm)	8,2 Ba	7,8 Aa	855 Aa	876 Aa	777 Ba	781 Aa
M (5,15 x 19,5 mm)	8,6 Aa	8,0 Aa	877 Aa	892 Aa	845 Aa	814 Aa
M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	9,0 Aa	8,6 Aa	881 Aa	893 Aa	878 Aa	867 Aa
<M-0,8 (3,96 x 19,5 mm)	7,5 Ba	8,1 Aa	852 Aa	867 Aa	750 Ba	786 Aa
CV(%)	8,6		4,8		7,3	

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Tabela 11. Cultivar Anta 82RR: comprimento (CP) e massa seca de plântulas (MS) de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	CP (cm/plântula)						MS (mg/plântula)					
	Hipocótilo		Raiz		plântula		Hipocótilo		Raiz		plântula	
	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2
Test.	12,3 Aa	11,7 Aa	18,0 Aa	19,1 Aa	30,3 Aa	30,8 Aa	12,5 Ba	14,1 Aa	3,2 Ba	3,3 Ba	15,7 Ba	17,4 Aa
M+0,8 (5,95 x 19,5 mm)	9,4 Ba	10,9 Aa	19,0 Aa	18,8 Aa	28,4 Ba	29,7 Aa	15,4 Aa	15,3 Aa	4,2 Aa	4,0 Aa	19,6 Aa	19,3 Aa
M (5,15 x 19,5 mm)	13,5 Aa	12,2 Aa	20,2 Aa	18,7 Aa	33,7 Aa	30,9 Aa	14,4 Aa	14,1 Aa	4,0 Aa	3,8 Aa	18,4 Aa	17,9 Aa
M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	12,4 Aa	12,5 Aa	18,4 Aa	18,2 Aa	30,8 Aa	30,7 Aa	9,5 Ca	10,7 Ba	2,7 Ba	2,6 Ca	12,2 Ca	13,3 Ba
<M-0,8 (3,96 x 19,5 mm)	11,2 Ba	10,9 Aa	16,5 Ba	13,2 Bb	27,7 Ba	24,1 Bb	7,7 Da	8,2 Cb	1,9 Ca	1,5 Da	9,6 Da	9,7 Ca
CV(%)	11,0		8,9		8,9		9,2		13,0		9,3	

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Tabela 12. Cultivar Anta 82RR: teor de lignina de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	Teor de lignina (%)	
	Lote 1	Lote 2
Test.	3,8 Aa	3,4 Ba
M+0,8 (5,95 x 19,5 mm)	3,6 Bb	4,2 Aa
M (5,15 x 19,5 mm)	3,4 Ba	3,4 Ba
M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	3,4 Ba	3,5 Ba
<M-0,8 (3,96 x 19,5 mm)	3,7 Aa	3,3 Ba
CV(%)	4,4	

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

As características químicas e estruturais do tegumento das sementes de soja estão relacionadas à capacidade e velocidade de absorção de água e, consequentemente com a velocidade de germinação (BECKERT et al., 2000; SOUZA; MARCOS-FILHO, 2001; MIAO et al., 2001; MEYER et al., 2007; MENEZES, 2008; SMÝKAL et al., 2014). O teor de lignina um dos fatores associados às diferenças na permeabilidade do tegumento de sementes entre os cultivares de soja (SOUZA e MARCOS-FILHO, 2001; MA et al., 2004; CAVARINI et al., 2009; MERTZ et al., 2009). O teor de lignina é uma característica constante e determinada geneticamente (MA et al., 2004; QUTOB et al., 2008; SILVA et al., 2008; CAVARINI et al., 2009; MARCOS-FILHO, 2015); no entanto não há disponibilidade de informações que permitam identificar relações entre o teor de lignina e o tamanho das sementes em um mesmo cultivar. Para ambos os lotes, as sementes de tamanho <M-0,8 apresentaram média do teor de lignina semelhante à testemunha (sem classificação); mas, houve variações nos resultados entre os tamanhos dentro dos lotes. Para o lote 1 as sementes de tamanho <M-0,8 apresentaram média teor de lignina superior aos demais; entretanto, para o lote 2, foi verificada a maior média nas sementes de tamanho M+8 (Tabela 12). Assim, de maneira geral, não foi detectada relação consistente entre teor de lignina e tamanho de sementes de soja, pois, as variações no teor de lignina entre sementes de diferentes tamanhos e entre lotes foram relativamente pequenas. A média do teor de lignina do tegumento das sementes do cultivar Anta 82RR foi de 3,6%.

A espessura da testa do tegumento da semente é uma característica física determinada geneticamente (MA et al., 2004; QUTOB et al., 2008; SILVA et al., 2008; CAVARINI et al., 2009; MARCOS-FILHO, 2015) e, assim como o teor de lignina, está relacionada à permeabilidade do tegumento (MIAO et al., 2001; MA et al., 2004; MEYER et al., 2007; MENEZES, 2008; CAVARINI et al., 2009; SMÝKAL et al., 2014); a espessura da camada paliçádica é um dos fatores considerados nessa relação: quanto maior a espessura, menor a permeabilidade (MA et al., 2004; MENEZES, 2008; CAVARINI et al., 2009). Entretanto não há menção à comparação entre a espessura da camada paliçádica em sementes com diferentes tamanhos de um mesmo cultivar. Nas Figuras 2 e 3 estão ilustradas as eletromicrografias de varredura de cortes transversais da testa da semente de soja do lote 1 (Figura 2) e do lote 2 (Figura 3) do cultivar Anta 82RR, sendo possível visualizar nitidamente as partes constituintes da estrutura da testa: (a) cutícula, (b) epiderme (camada paliçádica), (c) hipoderme (células em ampulheta) e (d) células parenquimatosas.

Pode-se verificar que, para ambos os lotes, as sementes dos tamanhos M e M-0,8 apresentaram valores semelhantes de espessura da camada paliçádica e as sementes dos tamanhos M+0,8 e <M-0,8, respectivamente, apresentaram o maior e menor valor numérico de espessura dessa camada comparadas as sementes dos demais tamanhos. Durante o desenvolvimento das camadas do tegumento de sementes de soja (epiderme, hipoderme, parênquima), a camada de células paliçádicas é a última a se formar (RANATHUNGE et al., 2010); dessa maneira, considerando também que as sementes “grandes” são aquelas que tiveram maior tempo para se desenvolverem, comparadas as sementes “pequenas” de um mesmo lote, possivelmente, por esses fatos, as sementes “grandes”

(M+0,8) poderiam apresentar maior espessura de camada paliçádica do que as sementes “pequenas” (<M-0,8). Entretanto, apenas com os resultados obtidos na presente pesquisa, não podem afirmar com consistência essas relações, pois não se utilizou repetições estatísticas.

Por mais que as sementes dos lotes do cultivar Anta 82RR tenham apresentado alto potencial fisiológico, foi possível verificar menor germinação e baixo vigor das sementes de tamanho <M-0,8 do lote 1 por meio do teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl e análises do comprimento de plântula e do índice de vigor pelo SVIS®; além disso, para ambos os lotes foi verificado baixo desempenho de plântulas originadas de sementes de tamanho <M-0,8, com menor comprimento de raiz primária e de plântulas e menor massa seca de plântulas e de suas partes, considerando condições adequadas de disponibilidade hídrica. Não foi verificada para o cultivar Anta 82RR, relação consistente entre o tamanho e o teor de lignina das sementes, pois houve variações nos resultados obtidos dentro de cada lote; o teor médio de lignina desse cultivar foi de 3,6%. Nas eletromicrografias de varredura de cortes transversais da testa da semente de soja do cultivar Anta 82RR foi observado que as sementes de tamanho M+0,8, de ambos os lotes, apresentaram maior valor numérico de espessura da camada paliçádica; entretanto vale ressaltar que não foi possível identificar relação entre o tamanho das sementes e a espessura dessa camada, pois a pesquisa não envolveu repetições estatísticas nas análises de microscopia eletrônica de cada lote deste cultivar.

Figura 2. Espessura da epiderme (camada paliçádica) (b) da testa do tegumento de sementes de soja de diferentes tamanhos (M+0,8, M, M-0,8, e < M-0,8) do lote 1, cultivar Anta 82RR, obtidas por microscopia eletrônica de varredura. (a) cutícula, (c) hipoderme (células em ampulheta), e (d) células parenquimatosas.

Figura 3. Espessura da epiderme (camada paliçada) (b) da testa do tegumento de sementes de soja de diferentes tamanhos (M+0,8, M, M-0,8, e < M-0,8) do lote 2, cultivar Anta 82RR, obtidas por microscopia eletrônica de varredura. (a) cutícula, (c) hipoderme (células em ampulheta), e (d) células parenquimatosas.

2.3.1.2. Cultivar M7739 IPro

As sementes do cultivar M7739IPro apresentaram variação de 0,1 ponto percentual (11,0 a 11,1%), no teor de água, considerada adequada para obtenção de resultados consistentes nos testes conduzidos (MARCOS-FILHO, 2015). As sementes “maiores” (M+0,8) apresentaram superioridade quanto à massa de mil sementes, evidenciando relação diretamente proporcional do tamanho das sementes e sua massa (Tabela 13), também verificada para as sementes do cultivar Anta 82 (Tabela 6). Isto não surpreende, pois as diferenças do tamanho e massa seca de sementes de uma população de plantas de soja estão relacionadas ao período de transferência de matéria seca da planta para as sementes; para as sementes menores geralmente isto ocorre de maneira abreviada, em comparação às sementes maiores (MARCOS-FILHO, 2015).

Tabela 13. Cultivar M7739IPro: teor de água (TA) e massa de 1000 sementes de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	TA (%)		Massa de 1000 sementes (g)	
	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4
Test.	11,1	11,0	163,25	165,62
M+0,8 (6,35 x 19,5 mm)	11,1	11,0	240,12	241,61
M (5,55 x 19,5 mm)	11,1	11,1	177,12	178,05
M-0,8 (4,77 x 19,5 mm)	11,0	11,1	109,55	109,38
<M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	11,0	11,0	97,43	96,30

Tabela 14. Cultivar M7739IPro: área (A), diâmetro máximo (DMa), diâmetro mínimo (DMi) e perímetro (P) de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	A (mm ²)		DMa (mm)		DMi (mm)		P(mm)	
	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4
Test.	32	31	7,2	7,0	5,6	5,4	21,9	21,0
M+0,8 (6,35 x 19,5 mm)	41	41	7,8	8,3	6,1	6,1	24,7	25,7
M (5,55 x 19,5 mm)	32	32	7,3	7,3	5,6	5,5	21,3	21,8
M-0,8 (4,77 x 19,5 mm)	23	23	6,2	6,2	4,7	4,7	18,2	18,4
<M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	23	21	6,2	6,0	4,3	4,3	15,8	17,8

Na Tabela 14 são apresentados os valores médios referentes à área, diâmetro máximo, diâmetro mínimo e perímetro das sementes de M7739IPro. Para as sementes deste cultivar também foi possível verificar a eficiência da classificação das sementes por diferenças de espessura, em peneira de perfuração oblonga, pois a média do diâmetro mínimo obtido para cada tamanho de sementes correspondeu à largura do crivo da peneira equivalente; por exemplo, as sementes de tamanho M, classificadas em peneiras com 5,55 mm de espessura, apresentaram valores de diâmetro mínimo (DMi) de 5,50 mm.

Para ambos os lotes, as sementes correspondentes ao tamanho médio do lote (M) apresentaram germinação superior à das sementes de tamanho $<M-0,8$: essa superioridade também foi verificada na maioria das determinações realizadas para a avaliação do vigor das sementes desse cultivar (Tabelas 15 e 16). O teste de envelhecimento acelerado identificou diferenças estatísticas entre os tamanhos apenas dentro do lote 3, com inferioridade do tamanho $<M-0,8$ em relação aos demais; entretanto, dentro do lote 4, mesmo não havendo diferenças estatísticas, o menor valor numérico foi verificado para as sementes pertencentes a esse tamanho. O teor de água das sementes após o envelhecimento acelerado apresentou variações adequadas para a obtenção de resultados consistentes (12,0 a 12,4%). A literatura comenta que na avaliação de uma população de sementes de soja, os maiores potenciais fisiológicos serão verificados em sementes compreendidas dentro dos limites de $M \pm 0,8$ mm (2/64"); as sementes menores que $M-0,8$ mm apresentam os piores desempenhos (WETZEL, 1979; AGUIAR, 1979; BECKERT, 2000). Apenas com os resultados obtidos na presente pesquisa não foi possível identificar de maneira concisa qual o tamanho de sementes que apresenta o maior potencial fisiológico, possivelmente por se tratarem de materiais com alto potencial fisiológico; entretanto foi possível confirmar a inferioridade do vigor das sementes menores que $M-0,8$ mm, pois tanto para o cultivar M7739IPro quanto para o cultivar Anta 82RR constatou-se desempenho inferior das sementes de tamanho $<M-0,8$ para a maioria das determinações realizadas, sendo mais evidente no cultivar M7739IPro.

Tabela 15. Cultivar M7739IPro: germinação (G), primeira contagem (1ª C), envelhecimento acelerado com solução saturada de sal (EASS), emergência de plântulas (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	G (%)		1ª C (%)		EASS (%)		E (%)		IVE (%)	
	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4
Test.	97 Aa	93 Aa	96 Aa	92 Aa	95 Aa	91 Aa	91 Aa	92 Aa	9,2 Aa	9,3 Aa
M+0,8 (6,35 x 19,5 mm)	95 Aa	88 Bb	91 Aa	83 Ba	92 Aa	84 Ab	93 Aa	91 Aa	9,6 Aa	9,3 Aa
M (5,55 x 19,5 mm)	93 Aa	94 Aa	88 Ba	93 Aa	92 Aa	87 Aa	93 Aa	95 Aa	9,5 Aa	9,5 Aa
M-0,8 (4,77 x 19,5 mm)	88 Ba	92 Aa	84 Bb	92 Aa	92 Aa	89 Aa	92 Aa	88 Aa	9,4 Aa	9,0 Ba
<M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	88 Ba	90 Ba	85 Bb	87 Ba	75 Bb	82 Aa	81 Ba	76 Ba	8,5 Ba	8,5 Ba
CV (%)	3,0		4,5		5,6		4,9		4,4	

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Tabela 16. Cultivar M7739IPro: teste de tetrazólio 1-3 (vigor) e tetrazólio 1-5 (viabilidade) de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	Vigor (%)		Viabilidade(%)	
	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4
Test.	90 Aa	79 Bb	98 Aa	84 Bb
M+0,8 (6,35 x 19,5 mm)	90 Aa	87 Aa	95 Aa	95 Aa
M (5,55 x 19,5 mm)	88 Aa	86 Aa	93 Aa	91 Aa
M-0,8 (4,77 x 19,5 mm)	82 Bb	91 Aa	89 Ab	96 Aa
<M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	88 Aa	79 Bb	94 Aa	90 Aa
CV (%)	5,4		4,3	

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Os dados referentes à análise de imagens de plântulas pelo SVIS[®], para os lotes de M7739IPro, estão apresentados na Tabela 17. Os resultados permitiram identificar a inferioridade do desempenho das sementes de tamanho $<M-0,8$ comparado aos demais tamanhos, pois todos os parâmetros analisados pelo SVIS[®] classificaram sementes desse tamanho com menor vigor, exceto o comprimento de plântulas do lote 4. Esses resultados foram coerentes com os obtidos nas determinações de primeira contagem de germinação, porcentagem de germinação, envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl e porcentagem e índice de velocidade de emergência de plântulas (Tabela 15). As análises pelo SVIS[®] foram consideradas ferramentas eficientes para detectar diferenças no vigor de sementes de soja (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS-FILHO et al., 2009; YAGUSHI, 2011; WENDT et al., 2014) e os resultados aqui obtidos, tanto para o cultivar M7739IPro quanto para Anta 82 RR, confirmaram essa possibilidade.

Os dados obtidos nas determinações do comprimento e massa seca de plântulas dos lotes do cultivar M7739IPro são apresentados na Tabela 18; houve variações no comprimento de plântulas e de suas partes (hipocótilo e raiz primária), dentro de cada lote. No lote 3, as sementes de tamanho $M+0,8$ originaram plântulas com menor comprimento total e de suas partes, comparadas as sementes dos demais tamanhos, exceto para o comprimento do hipocótilo, com menor valor em plântulas originadas de sementes de tamanho M e a testemunha; por sua vez, dentro do lote 4, as sementes de tamanhos $M+0,8$ e $<M-0,8$ originaram plântulas com menores comprimentos de hipocótilo e total de plântula. No entanto, para ambos os lotes, as sementes de tamanho M apresentaram maior comprimento médio de raiz e total de plântulas quando comparadas às sementes de tamanho $<M-0,8$; esses resultados foram comparáveis aos dos testes de germinação, envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, porcentagem e índice de velocidade de emergência de plântulas e aos índices de uniformidade e de vigor no SVIS[®] (Tabela 15 e 17). Os dados obtidos para massa seca de plântulas referente ao cultivar M7739IPro, permitiram enfatizar a relação diretamente proporcional do tamanho da semente e massa seca de plântulas, pois as sementes de tamanho $M-0,8$ e $<M-0,8$ apresentaram as menores quantidades de massa seca de plântulas e de suas partes, observações também verificadas para o cultivar Anta 82 RR (Tabela 11).

Tabela 17. Cultivar Anta 82RR.M7739IPro: comprimento de plântulas ao terceiro dia (CP 3º dia) após a semeadura, índice de uniformidade (IU) e índice de vigor (IV) de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura, obtidas no equipamento pelo SVIS®.

Tratamento	CP 3º dia (cm)		IU		IV	
	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4
Test.	6,8 Ba	5,5 Cb	855 Aa	813 Aa	707 Ba	614 Bb
M+0,8 (6,35 x 19,5 mm)	5,8 Ba	6,7 Ba	832 Aa	817 Aa	603 Ca	669 Ba
M (5,55 x 19,5 mm)	7,7 Aa	7,2 Ba	877 Aa	823 Aa	769 Aa	669 Bb
M-0,8 (4,77 x 19,5 mm)	6,5 Bb	8,1 Aa	802 Aa	837 Aa	674 Bb	761 Aa
<M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	5,9 Bb	7,5 Aa	720 Ba	759 Ba	516 Db	651 Ba
CV(%)	9,4		4,8		7,3	

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Tabela 18. Cultivar M7739IPro: comprimento de plântulas (CP) e massa seca de plântulas (MS) de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	CP(cm/plântula)						MS (mg/plântula)					
	Hipo		Raiz		Total		Hipo		Raiz		Total	
	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4	Lote 3	Lote 4
Test.	8,1 Ba	8,8 Aa	19,4 Aa	18,5 Aa	27,5 Aa	27,3 Aa	11,2 Aa	11,8 Ba	4,0 Aa	4,2 Aa	15,2 Aa	16,0 Aa
M+0,8 (6,35 x 19,5 mm)	7,2 Ba	6,8 Ba	11,6 Bb	16,1 Aa	18,8 Bb	22,9 Ba	12,3 Ab	14,2 Ab	4,3 Aa	4,5 Aa	16,6 Ab	18,7 Aa
M (5,55 x 19,5 mm)	7,9 Ba	7,6 Ba	18,4 Aa	18,7 Aa	26,3 Aa	26,3 Aa	13,1 Aa	11,6 Ba	3,7 Ab	5,0 Aa	16,8 Aa	16,6 Aa
M-0,8 (4,77 x 19,5 mm)	9,9 Aa	9,3 Aa	17,2 Aa	17,9 Aa	27,1 Aa	27,2 Aa	8,6 Ba	8,7 Ca	3,2 Ba	3,0 Ba	11,8 Ba	11,7 Ba
<M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	10,6 Aa	6,6 Bb	17,3 Aa	15,2 Aa	27,9 Aa	21,8 Aa	7,8 Ba	5,0 Cb	2,6 Ba	1,5 Cb	10,4 Ba	6,5 Ba
CV (%)	15,5		14,2		12,2		11,8		16,0		12,0	

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Tabela 19. Cultivar M7739IPro: teor de lignina de sementes de dois lotes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	Teor de lignina (%)	
	Lote 3	Lote 4
Test.	4,2 Aa	3,5 Aa
M+0,8 (6,35 x 19,5 mm)	4,1 Aa	4,1 Aa
M (5,55 x 19,5 mm)	4,0 Aa	3,7 Aa
M-0,8 (4,77 x 19,5 mm)	4,1 Aa	3,3 Aa
<M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	3,9 Aa	3,4 Aa
CV (%)	6,7	

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Não houve diferença estatística quanto ao teor de lignina do tegumento das sementes entre tamanhos e lotes do cultivar M7739IPro (Tabela 19). O teor médio de lignina das sementes desse cultivar foi de 3,8%, diferindo 0,2 pontos percentuais da média obtida para o cultivar Anta 82RR (Tabela 13). Nas Figuras 4 e 5 são apresentadas as eletromicrografias de varredura de cortes transversais da testa da semente de soja do lote 3 (Figura 4) e do lote 4 (Figura 5) do cultivar M7739IPro, permitindo visualizar nitidamente as partes constituintes da estrutura da testa. Para este cultivar também foi verificado o maior valor numérico de espessura da camada paliçádica da semente de tamanho M+0,8 comparada à semente de tamanho <M-0,8. Dessa maneira, os resultados obtidos na presente pesquisa permitiram verificar possível relação entre tamanho da semente e espessura da camada paliçádica do tegumento de sementes de soja, no entanto é necessário pesquisas futuras para investigar essa questão.

Com base na maioria dos resultados obtidos nas determinações realizadas com as sementes dos cultivares Anta 82RR e M7739IPro, foi possível verificar a inferioridade da germinação, vigor e desempenho de plântulas das sementes de tamanho <M-0,8, comparadas as sementes dos demais tamanhos; vale ressaltar que essa inferioridade foi mais evidente nas sementes do cultivar M7739IPro. O teor de lignina do tegumento não apresentou relação com o tamanho da semente de soja, pois foram verificadas diferenças estatísticas entre tamanho e lotes apenas do cultivar Anta 82RR; o teor médio de lignina entre os cultivares variaram em 0,2 pontos percentuais, com 3,6% para o cultivar Anta 82RR e 3,8% para o cultivar M7739IPro. Nas determinações da espessura da camada paliçádica, para ambos os cultivares, as sementes de tamanho M+0,8 apresentaram maiores valores numéricos; no entanto não foi possível identificar relação consistente entre o tamanho da semente e espessura dessa camada, pois a pesquisa não envolveu repetições estatísticas.

Alguns autores relataram a influência da disponibilidade hídrica sobre o efeito do tamanho no desempenho de plântulas em campo durante o processo a emergência (COSTA et al., 2004; PEREIRA et al., 2013). No próximo item (2.3.2) serão apresentados e discutidos os resultados obtidos nas avaliações do desempenho das sementes de diferentes tamanhos, sob variações na disponibilidade hídrica.

Figura 4. Espessura da epiderme (camada paliçada) (b) da testa do tegumento de sementes de soja de diferentes tamanhos (M+0,8, M, M-0,8, e < M-0,8) do lote 3, cultivar M7739IPro, obtidas por microscopia eletrônica de varredura. (a) cutícula, (c) hipoderme (células em ampulheta), e (d) células parenquimatosas.

Figura 5. Espessura da epiderme (camada paliçada) (b) da testa do tegumento de sementes de soja de diferentes tamanhos (M+0,8, M, M-0,8, e < M-0,8) do lote 4, cultivar M7739IPro, obtidas por microscopia eletrônica de varredura. (a) cutícula, (c) hipoderme (células em ampulheta), e (d) células parenquimatosas.

2.3.2. Relações entre tamanho e germinação de sementes de soja sob variações na disponibilidade hídrica

2.3.2.1. Cultivar Anta 82RR

Nas Figuras 6 e 7 são apresentadas as marchas de absorção de água das sementes de diferentes tamanhos (M+0,8, M, M-0,8, <M-0,8 e testemunha) do cultivar Anta 82 RR, sob variações na disponibilidade hídrica do substrato (-0,04 , -0,10 , -0,20 e -0,40 MPa). As sementes dos diferentes tamanhos, independentemente do potencial hídrico do substrato, absorveram água de maneira semelhante ao padrão trifásico apresentado por Bewley e Black (1994). O teor de água inicial influencia o processo de absorção de água das sementes de soja, de maneira que sementes mais secas absorvem água mais rapidamente nas primeiras horas de hidratação (ROSSETTO et al., 1997). Na

presente pesquisa não houve influência do teor de água inicial das sementes, pois esses valores foram relativamente semelhantes entre as sementes de diferentes tamanhos, com variações entre 8,4 a 8,7%.

Para as sementes de todos os tamanhos, houve diminuição na velocidade de absorção de água das sementes e consequentemente da protrusão da raiz primária, à medida que foi reduzido o potencial hídrico do substrato; por exemplo, nas sementes de tamanho médio (M), sob potencial hídrico de -0,04 MPa, a protrusão da raiz primária (55 a 60% de água) ocorreu após 24 horas de hidratação e, sob os potenciais de -0,20 e -0,40 MPa, após 32 e 40 horas de hidratação, respectivamente. Esses resultados eram esperados, pois, a redução do potencial hídrico retarda as atividades metabólicas em função da menor disponibilidade de água para a mobilização das reservas e o transporte dos produtos metabolizados (SÁ, 1987; ROSSETTO et al., 1997; COSTA et al., 2004; SILVA et al., 2006; COSTA et al., 2012; PEREIRA et al., 2013; SOARES et al., 2015). A absorção de água pelas sementes ocorre obedecendo a um padrão trifásico (BEWLEY; BLACK, 1994; BECKERT, et al., 2000).

Em todos os potenciais hídricos (-0,04, -0,10, -0,20 e -0,40 MPa) as sementes menores que o tamanho médio (M-0,8 e <M-0,8) absorveram água e emitiram a raiz primária (protrusão radicular) mais rapidamente que as sementes de tamanho maior ou igual ao médio (M+0,8 e M); na testemunha (test.) isto ocorreu de maneira semelhante à das sementes de tamanho médio (M). Esses resultados podem ser explicados pelo fato das sementes “menores” (M-0,8 e <M-0,8) apresentarem maior área de contato por unidade de massa (BECKERT et al., 2000; COSTA et al., 2004) e, consequentemente necessitarem de menor quantidade de água para atingirem teores necessários à protrusão radicular (BECKERT et al., 2000), quando comparadas às sementes “maiores” (M+0,8 e M). Sementes com menor potencial fisiológico também absorvem água mais rapidamente, pois apresentam maior permeabilidade das membranas devido à deterioração (SÁ, 1987; ROSSETTO et al., 1997; BECKERT et al., 2000); a rápida absorção de água das sementes de tamanho <M-0,8 possivelmente também teve influência do fator potencial fisiológico, pois, essas sementes apresentaram baixo desempenho no teste de envelhecimento acelerado com solução saturada (Tabela 8).

Segundo Rossetto et.al., (1997) as sementes de soja tem sua velocidade de germinação reduzida apenas sob potenciais menores ou iguais a -0,20 MPa; esse fato também foi verificado na presente pesquisa, pois no teste de germinação (Tabela 20) foram identificadas diferenças entre os tamanhos apenas sob potenciais hídricos de -0,20 e -0,40 MPa, com menor porcentagem de germinação das sementes de tamanho M+0,8 em comparação às dos demais tamanhos. Sob potencial hídrico de -0,20 MPa não foram verificadas diferenças estatísticas na porcentagem média de germinação entre as sementes de tamanho igual ou menor que a média (M, M-0,8 e <M-0,8); entretanto as sementes de tamanho M-0,8 apresentaram maior valor numérico nessa avaliação, além disso foram menos afetadas pela redução do potencial hídrico do substrato, com diminuição da germinação apenas sob o potencial hídrico de -0,40 MPa. Sob baixa disponibilidade hídrica, sementes com alto potencial fisiológico tendem a suportar essa condição por um maior período de tempo (SÁ,

1987; ROSSETTO et al., 1997); possivelmente por isso as sementes de tamanho M-0,8 apresentaram melhor desempenho, pois, de maneira geral, essas sementes tiveram melhores desempenhos avaliados nos testes de envelhecimento acelerado com solução saturada (Tabela 8) e no índice de vigor pelo SVIS (Tabela 10).

Tabela 20. Germinação (%) sob variações na disponibilidade hídrica, de sementes de diferentes tamanhos, Cultivar Anta 82RR.

Tratamento	Potencial Hídrico (MPa)			
	-0,04	-0,10	-0,20	-0,40
Test.	94 Aa	88 Aa	81 Ab	58 Bb
M+0,8 (5,95 x 19,5 mm)	94 Aa	89 Aa	67 Bb	36 Cc
M (5,15 x 19,5 mm)	96 Aa	87 Ab	86 Ab	59 Bc
M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	93 Aa	93 Aa	90 Aa	76 Ab
<M-0,8 (3,96 x 19,5 mm)	94 Aa	91 Aa	83 Ab	79 Ab
CV(%)	10,3			

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Figura 6. Cultivar Anta 82RR: marchas de absorção de água, sob potenciais hídricos de -0,04 (A) e -0,10 (B) MPa, de sementes classificadas por diferenças de espessura.

— test — M+0.8 (5.95 x 19.5) — M (5.15 x 19.5 mm) — M-0.8 (4.37 x 19.5) — <M-0.8 (3.96 x 19.5)
 ↓ Protrusão radicular

Figura 7. Cultivar Anta 82RR: marchas de absorção de água, sob potenciais hídricos de -0,20 (C) e -0,40 (D) MPa (B), de sementes classificadas por diferenças de espessura.

Na primeira contagem do teste de germinação sob variações da disponibilidade hídrica (Tabela 21) as sementes iguais ou maiores que o tamanho médio (M+0,8 e M) do lote tiveram suas porcentagens de plântulas normais diminuídas à medida que se reduziu o potencial hídrico do substrato. Por outro lado, as sementes menores que o tamanho médio (M-0,8 e <M-0,8) tiveram sua porcentagem de plântulas normais reduzida apenas sob potenciais iguais ou menores que -0,20MPa; sob o potencial hídrico de -0,40 MPa, todos os tamanhos não apresentaram plântulas normais na primeira contagem de germinação.

Sob os potenciais hídricos de -0,04 MPa não foram verificadas diferenças entre porcentagens médias de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação; no entanto, com a redução do potencial hídrico a partir de 0,10 MPa, as sementes menores que o tamanho médio (M-0,8 e <M-0,8) apresentaram maiores porcentagens médias de plântulas normais do que as sementes de tamanho igual ou superiores a média (M+0,8 e M). Sob potencial hídrico de -0,20 MPa, as sementes de tamanho M-0,8 apresentaram maior porcentagem média de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação; estes resultados enfatizam a superioridade do desempenho das sementes de tamanho M-0,8 em comparação as dos demais tamanhos, sob condições de deficiência hídrica.

Tabela 21. Cultivar Anta 82RR: primeira contagem (%) do teste de germinação sob variações na disponibilidade hídrica de sementes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	Potencial Hídrico (MPa)			
	-0,04	-0,10	-0,20	-0,40
Test.	93 Aa	83 Bb	46 Cc	zero
M+0,8 (5,95 x 19,5 mm)	91 Aa	77 Bb	21 Dc	zero
M (5,15 x 19,5 mm)	94 Aa	81 Bb	47 Cc	zero
M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	91 Aa	89 Aa	77 Ab	zero
<M-0,8 (3,96 x 19,5 mm)	91 Aa	85 Aa	69 Bb	zero
CV(%)	12,0			

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Houve redução do índice de velocidade de emissão de raiz primária das sementes (Tabela 22) à medida que decresceu o potencial hídrico do substrato, independentemente do tamanho da semente. A água é o principal agente controlador e estimulador do processo de germinação, ocasionando a expansão e divisão celular e conseqüentemente à protrusão radicular; para que ocorra as sementes de soja devem apresentar teor de água de, no mínimo, 50% (BEWLEY; BLACK, 1994; BECKERT, et al., 2000; MEYER et al., 2007; VILELA, et al., 2007; GUIMARÃES, et al., 2008; TOLEDO, 2008; MARCOS-FILHO, 2015). A redução do potencial hídrico do substrato ocasiona a diminuição da disponibilidade de água para a digestão dos materiais de reserva e transporte dos produtos metabolizados, dessa maneira, independentemente do tamanho, as sementes necessitarão de

maior tempo para atingir o teor de água necessário à protrusão radicular, e consequentemente o índice de velocidade de emissão de raiz primária das sementes será reduzido.

Levando em consideração que as sementes “menores” necessitam menor quantidade de água para a germinação (BECKERT, et al., 2000), em condições de menor disponibilidade hídrica essas sementes teoricamente emitiriam raiz primária mais rapidamente do que as sementes “maiores”. Na presente pesquisa essa hipótese foi confirmada, pois sob potenciais hídricos de -0,20 e -0,40 MPa as sementes de tamanho menor que o tamanho médio (M-0,8 e <M-0,8) apresentaram maiores índices de velocidade de protrusão radicular quando comparadas às sementes de tamanho maior ou igual a média (M+0,8 e M).

Tabela 22. Cultivar Anta 82RR: índice de velocidade de emissão de raiz primária sob variações na disponibilidade hídrica de sementes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	Potencial Hídrico (MPa)			
	-0,04	-0,10	-0,20	-0,40
Test.	37,2 Aa	23,6 Ab	19,6 Bc	10,6 Bd
M+0,8 (5,95 x 19,5 mm)	34,8 Ba	23,1 Ab	15,4 Cc	10,6 Cd
M (5,15 x 19,5 mm)	36,7 Aa	23,8 Ab	18,6 Bc	14,8 Bd
M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	37,0 Aa	24,4 Ab	21,4 Ac	18,1 Ad
<M-0,8 (3,96 x 19,5 mm)	36,5 Aa	24,2 Ab	22,4 Ac	19,6 Ad
CV(%)	6,7			

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Sob condições adequadas de disponibilidade hídrica (-0,04 MPa) as sementes de diferentes tamanhos do cultivar Anta 82 RR não apresentaram diferenças quanto à velocidade de germinação; porém, com a redução do potencial hídrico para -0,20 e -0,40 MPa, as sementes dos tamanhos M-0,8 e M+0,8 apresentaram, respectivamente o maior e menor porcentagem e velocidade de germinação comparadas as sementes dos demais tamanho.

2.3.2.2. Cultivar M7739IPro

Nas Figuras 8 e 9 estão apresentadas a marcha de absorção de água das sementes de diferentes tamanhos (M+0,8, M, M-0,8, <M-0,8 e testemunha) do cultivar M7739IPro, sob variações no potencial hídrico de -0,04, -0,10, -0,20 e -0,40 MPa. As sementes dos diferentes tamanhos desse cultivar também absorveram água de maneira semelhante ao padrão trifásico apresentado por Bewley e Black (1994) e apresentaram teor de água inicial relativamente semelhante, variando de 8,1 a 8,3% entre os tamanhos.

Com a redução do potencial hídrico do substrato houve o aumento do período de absorção de água anterior ao crescimento visível da raiz primária (protrusão radicular) resultados também

observados para o cultivar Anta 82RR (Figuras 6 e 7). Dessa maneira, foi possível confirmar a existência de relação direta entre o potencial hídrico do substrato e a velocidade de absorção de água e a influência sobre o momento da protrusão radicular. Tanto a rápida quanto a lenta absorção de água podem ser prejudiciais ao desenvolvimento das sementes. A rápida absorção de água, principalmente em sementes com baixo teor de água, sob disponibilidade adequada de água, pode ocasionar danos atribuídos à ruptura das membranas celulares, os chamados danos durante a embebição; por outro lado, com prolongamento do processo de embebição a reestruturação das membranas celulares pode ocorrer de maneira lenta, aumentando a exsudação de íons, açúcares e ácidos orgânicos das sementes, permitindo que as sementes fiquem mais expostas a ataque de patógenos (ROSSETTO et al, 1997).

Em todos os potenciais hídricos, as sementes menores que o tamanho médio (M-0,8 e <M-0,8) do cultivar M7739IPro apresentaram maior velocidade de hidratação comparadas as sementes de tamanho igual ou superior à média (M e M+0,8), exceto sob o potencial hídrico de -0,20 MPa em que as sementes de tamanho M absorveram água de maneira semelhante as dos tamanhos M-0,8 e <M-0,8 (Figuras 8 e 9). Para as sementes do cultivar Anta 82RR também foram verificadas maiores velocidades de absorção de água pelas sementes menores que a média (M-0,8 e <M-0,8), independentemente do potencial hídrico do substrato (Figuras 6 e 7). Essas observações permitem afirmar que há uma relação inversa entre o tamanho da semente e a velocidade de absorção de água: quanto menor o tamanho das sementes mais rápida será a absorção de água, e conseqüentemente a protrusão radicular.

Sob potencial hídrico de -0,04 MPa (alta disponibilidade hídrica) não houve diferenças quanto à porcentagem de germinação entre as sementes de tamanhos distintos. De maneira geral, as sementes de tamanho maior que a média (M+0,8) tiveram sua germinação mais afetada do que as sementes dos demais tamanhos, pois à medida que o potencial hídrico do substrato foi reduzido ocorreu decréscimo da porcentagem média de germinação. Sementes maiores absorvem água mais lentamente, além de necessitarem de maior quantidade de água para germinarem, quando comparadas as sementes menores (BECKERT et al, 2000), possivelmente por isso, as sementes de tamanho M+0,8 tiveram sua germinação mais prejudicada a medida que se reduziu o potencial hídrico do substrato.

— test — M+0,8 (5,95 x 19,5 — M (5,15 x 19,5 — M-0,8 (4,37 x 19,5 — <M-0,8 (3,96 x 19,5
 ↓ Protrusão radicular

Figura 8. Cultivar M7739IPro: marchas de absorção de água, sob potenciais hídricos de -0,04 (A) e -0,10 (B) MPa, de sementes classificadas por diferenças de espessura.

Figura 9. Cultivar M7739IPro: marchas de absorção de água, sob potenciais hídricos de -0,20 (C) e -0,40 (D) MPa, de sementes classificadas por diferenças de espessura.

As sementes de tamanho menor que o médio (M-0,8 e <M-0,8) do cultivar M7739IPro apresentaram maiores porcentagens de germinação sob potencial hídrico de -0,40 MPa (estresse hídrico), também observados no cultivar Anta 82RR (Tabela 20). As sementes de tamanho M-0,8 tiveram sua germinação menos afetada pela redução do potencial hídrico independentemente do cultivar: para Anta 82RR a germinação das sementes desse tamanho foram reduzidas apenas sob potencial hídrico de -0,40 MPa; por sua vez, para M7739IPro (Tabela 23) essas sementes sob o mesmo potencial hídrico apresentaram maior porcentagem de germinação. Esses resultados podem ser explicados por dois fatores: tamanho e potencial fisiológico das sementes. Sementes “menores” (M-0,8 e <M-0,8) absorvem água mais rapidamente, além de necessitarem de menor quantidade de água para germinarem, quando comparadas às sementes de tamanho maior ou igual a média (M+0,8 e M) (BECKERT et al, 2000); por isso na presente pesquisa as sementes menores apresentaram germinação superior à das maiores, sob condições de deficiência hídrica (-0,40 MPa). Por outro lado, comparando a germinação das sementes de tamanho M-0,8 e <M-0,8, possivelmente por apresentar menor potencial fisiológico as sementes de tamanho <M-0,8, de ambos os lotes (Tabelas 8 e 15), apresentaram menor germinação sob baixa disponibilidade hídrica (-0,40 MPa); sementes com baixo potencial fisiológico apresentam baixo desempenho sob condições adversas, entre elas deficiência hídrica (SÁ, 1987; ROSSETTO et al, 1997).

Tabela 23. Cultivar M7739IPro: germinação (%) sob variações na disponibilidade hídrica de sementes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	Potencial Hídrico (MPa)			
	-0,04	-0,10	-0,20	-0,40
Test.	93 Aa	86 Aa	75 Ab	33 Cc
M+0,8 (6,35 x 19,5 mm)	90 Aa	77 Bb	30 Bc	10 Dd
M (5,55 x 19,5 mm)	90 Aa	84 Aa	66 Ab	32 Cc
M-0,8 (4,77 x 19,5 mm)	91 Aa	88 Aa	74 Ab	68 Ab
<M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	86 Aa	78 Bb	70 Ab	47 Bc
CV(%)	11,5			

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

A redução do potencial hídrico do substrato afetou negativamente a porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação das sementes do cultivar M7739IPro, sendo que sob potencial hídrico de -0,40 MPa não foi verificada a ocorrência de plântulas normais, independentemente do tamanho da semente (Tabela 24). Sob alta disponibilidade hídrica (-0,04 MPa) não foram observadas diferenças quanto à porcentagem média de plântulas normais na primeira contagem; entretanto, com a redução da disponibilidade de água, as sementes de tamanho M+0,8, sob potencial hídrico de -0,10 MPa, e de tamanhos M+0,8 e M, sob -0,20 MPa, apresentaram menores porcentagens médias de plântulas normais nessa avaliação.

Tabela 24. Cultivar M7739IPro: primeira contagem (%) do teste de germinação sob variações na disponibilidade hídrica de sementes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	Potencial Hídrico (MPa)			
	-0,04	-0,10	-0,20	-0,40
Test.	85 Aa	74 Bb	20 Ac	zero
M+0,8 (6,35 x 19,5 mm)	87 Aa	39 Db	6 Bc	zero
M (5,55 x 19,5 mm)	84 Aa	67 Cb	15 Bc	zero
M-0,8 (4,77 x 19,5 mm)	88 Aa	81 Ab	39 Ac	zero
<M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	82 Aa	67 Cb	41 Ac	zero
CV(%)	12,8			

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

À medida que o potencial hídrico do substrato foi reduzido houve diminuição dos valores do índice de emissão de raiz primária das sementes do cultivar M7739IPro independentemente do tamanho (Tabela 25); além disso, as sementes de tamanho maior que a média (M+0,8) foram mais prejudicadas com a redução da disponibilidade hídrica, pois sob -0,20 e -0,40 MPa apresentaram menores valores médios desse índice; essas observações também foram verificadas para o cultivar Anta 82RR. Esses resultados são coerentes com as informações provenientes da marcha de absorção de água (Figuras 6 a 9), pois com a redução do potencial hídrico do substrato houve o prolongamento do período de hidratação das sementes e, conseqüentemente, atrasos na protrusão radicular e menor velocidade de absorção de água verificada para as sementes de tamanho M+0,8.

Tabela 25. Cultivar M7739IPro: índice de velocidade de emissão de raiz primária sob variações na disponibilidade hídrica de sementes classificadas por diferenças de espessura.

Tratamento	Potencial Hídrico (MPa)			
	-0,04	-0,10	-0,20	-0,40
Test.	33,3 Aa	20,1 Ab	14,8 Ac	10,3 Bd
M+0,8 (6,35 x 19,5 mm)	28,8 Ca	17,1 Bb	8,9 Cc	2,9 Cd
M (5,55 x 19,5 mm)	30,9 Ba	18,9 Ab	13,5 Bc	9,4 Bd
M-0,8 (4,77 x 19,5 mm)	32,0 Aa	20,5 Ab	15,5 Ac	13,4 Ad
<M-0,8 (4,37 x 19,5 mm)	29,9 Ba	19,5 Ab	15,8 Ac	12,2 Ad
CV(%)	7,81			

*As médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

O uso do tamanho médio do lote como parâmetro de referencia para classificação das sementes permitiu que esta pesquisa fornecesse informações relevantes e confiáveis sobre a relação entre o tamanho das sementes de soja e o potencial fisiológico, bem como a influência das variações na disponibilidade hídrica do substrato sobre a velocidade e porcentagem de germinação das sementes de soja de tamanhos distintos.

Para a soja, independentemente do lote, sementes de tamanho menor que o tamanho médio menos 0,8 mm (<M-0,8 mm) apresentaram menor potencial fisiológico. Quando foi considerada a deficiência hídrica durante o processo de germinação, as sementes de tamanho maior que a média mais

0,8 mm (M+0,8 mm) foram as mais prejudicadas. Isso provavelmente ocorreu, porque as sementes maiores absorvem água mais lentamente e necessitam maior quantidade de água para que ocorra a protrusão radicular, quando comparadas às sementes menores. Em situações de baixa disponibilidade hídrica isto é mais agravante, pois o processo de germinação de sementes maiores pode ocorrer em durante período relativamente longo, deixando as sementes mais expostas a microorganismos patogênicos, que prejudicaram sua germinação.

Por sua vez, as sementes de tamanho médio menos 0,8 mm (M-0,8 mm) são as menos prejudicadas pela deficiência hídrica do substrato, pois, além de apresentarem alto potencial fisiológico, o fator tamanho permite que essas sementes germinem mais rapidamente sob condições de médio e baixo potencial hídrico do substrato, quando comparadas aos sementes maiores que compõem a população.

3. CONCLUSÕES

A análise dos dados e a interpretação dos resultados da presente pesquisa permitiram concluir que:

- (a) Sementes de soja de tamanhos inferiores, em mais de 0,8 mm, à média do lote ($<M-0,8\text{mm}$) apresentam menor potencial fisiológico.
- (b) A redução do potencial hídrico do substrato diminui a velocidade de germinação de soja, independentemente do tamanho das sementes.
- (c) Sob média e baixa disponibilidade hídrica (-0,10, -0,20 e -0,40 MPa), as sementes de tamanho superior, em mais de 0,8mm ($M+0,8\text{ mm}$) em relação à media, apresentam menor porcentagem e velocidade de germinação.
- (d) Sementes de tamanho médio menos 0,8 mm ($M-0,8\text{ mm}$) tem sua porcentagem e velocidade de germinação menos afetadas pela redução do potencial hídrico.

REFERÊNCIAS

- ADEBISI, M.A.; KEHINDE, T.O.; SALAU, A.W.; OKESOLA, L.A.; PORBENI, J.B.O.; ESURUODO, A.O.; OYEKALE, K.O. Influence of different seed size fractions on seed germination, seedling emergence and seed yield characters in tropical soubean (*Glycine max* L. Merrill). **International Journal of Agricultural Reasearch**, v.8; n.1; p.26-33, 2013.
- AGUIAR, P.A.A. Efeito do tamanho da semente na germinação e vigor de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). In: I SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA – EMBRAPA. **Anais**. Londrina, v.2, p.232-235, 1979.
- AMBIKA, S; MANONMANI,V; SOMASSUNDARAN, G. Review of effect of seed size on seedling vigour and seed yield. **Research Jorنال of Seed Science**. p.1-8, 2014.
- ALVES, E. **Introdução à microscopia eletrônica de varredura**. Lavras: FAEPE, 2006. 43p.
- BARBOSA, C.Z.R.; SMIDERLE, O.J.; ALVES, J.M.A.; SEDIYAMA, T. Qualidade de sementes de soja BRS Tracajá, colhidas em Roraima em função do tamanho no armazenamento. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n.1, p. 73-80, 2010.
- BECKERT, O.P.; MIGUEL, M.H.; MARCOS-FILHO, J. Absorção de água e potencial fisiológico em sementes de soja de diferentes tamanhos. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 671-675, 2000.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, p.445 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365p. 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Padrões para produção e comercialização de sementes de soja**. Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013, Publicação: D.O.U. do dia 20/09/13, Seção 1, Brasília, 2013.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 5.ed. 590p.
- CAVARIANI, C.; TOLEDO, M.Z.; RODELLA, R.A.; FRANÇA-NETO, J.B.; NAKAGAWA, J. Velocidade de hidratação em função de características do tegumento de sementes de soja de diferentes cultivares e localidades. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.030-039, 2009.
- COSTA, J.A.; PIRES, J.L.F.; THOMAS, A.L.; ALBERTON, M. Comprimento e índice de expansão radial do hipocótilo de cultivares de soja. **Ciência Rural**, v. 29, p. 609-612, 1999.
- COSTA, P.R.; CUSTODIO, C.C.; MACHADO-NETO, N.B.; MARUBAYASHI, O.M. Estresse hídrico induzido por manitol em sementes de soja de diferente tamanho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.26, n.1, p.105-113, 2004)

- COSTA, S.M.D. Influência do tamanho da semente de soja na qualidade fisiológica. 2006. 15p. Dissertação (Mestre Profissional em Ciência e Tecnologia de Sementes). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/ Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.
- COSTA, D.S.; ROCHA, C.R.M.; NOVENBRE, A.D.L.C. Hydric restriction as vigor assessment method of soybean seeds, **Revista Brasileira de Sementes**, v.34, n.2, p.241 - 246, 2012.
- FERRARESE, M.L.L.; ZOTTIS, A.; FERRARESE-FILHO, O. Protein-free lignin quantification in soybean (*Glycine max*) roots. **Biol**, v.4, n.57, p. 541–543, 2012.
- FERREIRA, D. F. Programa de análises estatísticas (statistical analysis software) e planejamento de experimentos – **SISVAR 5.0** (Build 67). Lavras: DEX/UFLA, 2003.
- FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, Cap. 8, p. 8.5-1 - 8.5.26, 1999.
- GUIMARÃES, M.A.; DIAS, D.C.F.S.; LOUREIRO, M.E. Hidratação de sementes. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**. v. 2, n. 1, p. 31, 2008.
- HOFFMASTER, A.L.; FUJIMURA, K.; MCDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. Na automated system for vigor testing three-day old soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, v. 31, n.3, p. 701-713, 2003.
- JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H.J.; SOMASUNDARAM, R.; VAM, R.P. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal of Agriculture Biology**, v.11, n.1, p.100-105, 2009.
- KRISHNAN, P.; SINGH, R.; VERMA, A.P.S.; JOSHI, D.K., SINGH, S. Changes in seed water status as characterized by NMR in developing soybean seed grown under moisture stress conditions. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 444, p. 485–490, 2014.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; COSTA, N.P. Efeito da classificação de sementes de soja por tamanho sobre sua qualidade e a precisão de semeadura. **Revista Brasileira de Sementes**, v.13, p.59-68, 1991.
- LIU, B.; ZHOU, X.; QU, D. Relationship among seed size from different seed positions at several-seeded pod in soybean. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.10, p. 768-771, 2012.
- MA, F.; CHOLEWA, E.; MOHAMED, T.; PETERSON, C.A.; GIJZEN, M. Cracks in the palisade cuticle of soybean seed coats correlate with their permeability to water. **Ann.Bot.** v. 94, p. 213–228, 2004.
- MAGUIRE, J.D. Speeds of germination-aid and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-7, 1962.
- MARCOS FILHO, J.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Tamanho da semente e teste de envelhecimento acelerado para soja. **Scientia Agricola**, v. 57, n.3, p. 473- 482, 2000.

- MARCOS-FILHO J; KIKUTI ALP; LIMA LB. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p.102-112, 2009.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.3, p.1-24.
- _____. Importância do potencial fisiológico da semente de soja. **Informativo ABRATES**, v.23, n.1, 2013.
- _____. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**: ABRATES. Londrina, ed. 2, p.659, 2015.
- MENEZES, M. Aspectos genéticos associados à qualidade fisiológica de sementes de soja. 2008. 121p. Tese (Doutora em Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- MERTZ, L.M.; HENNING, F.A.; CRUZ, H.L.; MENEGHELLO, G.E.; FERRARI, C.S.; DZIMMER, P. Diferenças estruturais entre tegumentos de sementes de soja com permeabilidade contrastante. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 31, nº 1, p.023-029, 2009.
- MEYER, C.J.; STEUDLE, E.; PETERSON, C.A. Patterns and kinetics of water uptake by soybean seeds. **J. Exp.Bot.** v. 58, p. 717–732, 2007.
- MIAO, Z.H.; FORTUNE, J.A.; GALLAGHER, J. Anatomical structure and nutritive value of lupin seed coats. **Aust. J. Agric. Res.** v.52, p. 985–993, 2001.
- MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, v.51, p.914-916, 1973.
- MOREIRA-VILAR, F.C.; SIQUEIRA-SOARES, R.C.; FINGER-TEIXEIRA, A.; OLIVEIRA, D.M.; FERRO, A.P.; ROCHA, G.J.; FERRARESE, M.L.L.; SANTOS, W.D.; FERRARESE-FILHO, O. The Acetyl Bromide Method Is Faster, Simpler and Presents Best Recovery of Lignin in Different Herbaceous Tissues than Klason and Thioglycolic Acid Methods. **Plos One**, v.9, n.10, p.1-7, 2014.
- MORRISON, M.J.; XUE, A.G. The influence of seed size on soybean yield in short-season regions. **Canadian Journal of Plant Science**, v.87, n.1, p.89-91, 2007.
- MUNIZZI, A. Braccini A.L.; Rangel M. A. S.; Scapim C.A.; Barbosa M.C.; Albrecht L.P. Qualidade de sementes de quatro cultivares de soja, colhidas em dois locais no estado de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 176-185, 2010.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, cap.2, p.1-24, 1999.

- PADUA, G.P.; ZITO, R.K.; ARANTES, N.E.; FRANÇA-NETO, J.B. Influência do tamanho da semente na qualidade fisiológica e na produtividade da cultura da soja. **Revista Brasileira de Sementes**, n.3, v.32, p.9-16, 2010.
- PEREIRA, W.A.; PEREIRA, S.M.A.; DIAS, D.C.F.S. Influence of seed size and water restriction on germination of soybean seeds and on early development of seedlings. **Journal of Seed Science**, v.35, n.3, p.316-322, 2013.
- PICCININ, G. G.; DAN, L. G. de M.; RICCI, T. T.; BRACCINI, A. de L. e.; BARBOSA, M. C.; MOREANO, T. B.; NETO, A. H. Relação entre o tamanho e a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 5, n. 15, p. 20-28, 2012.
- PLACE, G. T.; REBERG-HORTON, S. C.; CARTER, T. E.; SMITH, A. N. Effects of soybean seed size on weed competition. **Agronomy Journal**, v.103, n.1, p.175-181, 2011.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2.ed. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.
- QUTOB, D.; MA, D.Q.F.; PETERSON, C.A.; BERNARDS, M.A.; GIJZEN, M.A. Structural and permeability properties of the soybean seed coat. *Botany*, v.86, p.219–227, 2008.
- RANATHUNGE, K.; SHAO, S.; QUTOB, D.; GIJZEN, M.; PETERSON, C.A.; BERNARDS, M.A. Properties of the soybean seed coat cuticle change during development. **Planta**, v. 231, p. 1171–1188, 2010.
- REZAPOUR, R.; KAZEMI-ARBAT, H.; YARNIA, M.; ZAFARANI-MOATTAR, P. Effect of seed size on germination and seed vigor of two soybean (*glycin max* L.) cultivars. **Intl. Res. J. Appl. Basic. Sci.** Vol., 4 (11), 3396-3401, 2013
- ROSSETTO, C.A.V.; NOVENBRE, A.D. da L.C; J. MARCOS-FILHO; W.R. da SILVA; J. NAKAGAWA . Efeito da disponibilidade hídrica do substrato, da qualidade fisiológica e do teor de água inicial das sementes de soja no processo de germinação. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v.54, n. 1-2, 1997.
- SÁ, M.E. **Relações entre qualidade fisiológica, disponibilidade hídrica e desempenho de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 1987. 147p. Tese (Doutor em Agronomia), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1987.
- SANTOS, P. M. dos.; REIS, M. S.; SEDIYAMA, T.; ARAÚJO, E. F.; CECON, P. R.; SANTOS, M. R. dos. Efeito da classificação por tamanho da semente de soja na sua qualidade fisiológica durante o armazenamento. **Acta Science Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 3, p. 395-402, 2005.
- SANTOS, P.M.; SANTOS, M.R.; CECON, P.R.; ARAÚJO, E.F.; SEDIYAMA, T.; REIS, M.S. Influência do tamanho de sementes de soja na qualidade fisiológica e sanitária durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.31, n.01, p.08-16, 2006.
- SGARBOSSA, M. **Desempenho de soja associado à posição do fertilizante e tamanho de sementes**. 2016. 47p. Dissertação (Mestre em Agronomia). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco, 2016.

- SCHEEREN, B.R. et al. Qualidade fisiológica e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v.32, n.3, p.35-41, 2010.
- SILVA, J.B.; RODRIGUES, T.J.D.; VIEIRA, R.D. Desempenho de sementes de soja submetidas a diferentes potenciais osmóticos em polietilenoglicol. **Ciência Rural**, v.36, n.5, set-out, 2006.
- SILVA, M.A.D.; VIEIRA, R.D.; SANTOS, J.M. Influência do envelhecimento acelerado na anatomia da testa de sementes de soja, cv. Monsoy 8400. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p.091-099, 2008.
- SMÝKAL, P.; VERNOUD, V.; BLAIR, M.W.; SOUKUP, A.; THOMPSON, R.D. The role of the testa during development and in establishment of dormancy of the legume seed. **Frontiers in Plant Science**. v.5, article, 351, p. 1-16, 2014.
- SOARES, M.M.; SANTOS-JUNIOR, H.C.; SIMÕES, PAZZIN, M.G.; D.; SILVA, L.J. Estresse hídrico e salino em sementes de soja classificadas em diferentes tamanhos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 4, p. 370-378, 2015.
- SOUZA, F. H. D.; MARCOS-FILHO, J. The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n.4. p. 365-375, 2001.
- TOLEDO, M.Z. **Dano por embebição em sementes de soja em função do teor de água inicial, cultivar, e local de produção.** (2008). 68p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2008.
- TRÉS, S.P.; ORSO, G.; BRAND, A.J.; SANTOS, E.L. Avaliação do vigor em sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em função do tamanho. **Cultivando o Saber**, v.3, n.2, p.31-37, 2010.
- VANZOLINI, S.; ARAKI, C. A.S.; SILVA, A.C.T.M. ; NAKAGAWA, J. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p.90-96, 2007.
- VILLELA, F.A.; DONI FILHO, L.; SIQUEIRA, E.L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.11/12, p.1957-1968, 1991.
- VILLELA, F.M.; NOVENBRE, A.D.L.C.; MARCOS-FILHO, J. Estado energético da água na germinação de semente de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, nº 1, p.27-34, 2007.
- VINHAL-FREITAS, I.C.; NUNES-JUNIOR, J.E.G.; SEGUNDO, J.P.; VILARINHO, M.S. Germinação e vigor de sementes de soja classificadas em diferentes tamanhos. **Agropecuária Técnica**, v. 32, n. 1, p 108–114, 2011.
- WENDT, L.; GOMES -JUNIOR, F.G.; ZORATO, M.F.; MOREIRA, G.C. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja por meio de imagens. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 3, p. 280-286, jul./set. 2014

- WETZEL, R.G. Some effects of seed size on performace. In: WETZEL, C.T. Efeito do tamanho das sementes de soja. In: I SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA - EMBRAPA. **Anais**. Londrina, v.2, p.333-341, 1979.
- YAGUSHI, J.T. Teste de envelhecimento acelerado e análise computadorizada de imagens de plântulas para a avaliação do desempenho de sementes de soja durante o armazenamento. (2011). 102p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), Piracicaba, 2011.