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

**Tratamento de sementes de soja com zinco: absorção e distribuição de
zinco durante a germinação e sua relação com o desempenho inicial
das plantas**

Lívia Araújo Rohr

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra
em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

**Piracicaba
2021**

Lívia Araújo Rohr
Engenheira Agrônoma

Tratamento de sementes de soja com zinco: absorção e distribuição de zinco durante a germinação e sua relação com o desempenho inicial das plantas

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011.

Orientador:
Prof. Dr. **FRANCISCO GUILHIEN GOMES JUNIOR**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra
em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2021

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

Rohr, Livia Araújo

Tratamento de sementes de soja com zinco: absorção e distribuição de zinco durante a germinação e sua relação com o desenvolvimento inicial das plantas / Livia Araújo Rohr. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2021.

57 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. *Glycine max* 2. Tratamento de sementes 3. Zinco 4. Fluorescência de raios X
I. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Jaime Antonio Rohr e Maria da Conceição de Araújo Rohr, pelo amor, confiança e por serem minha melhor torcida. Serei sempre grata por tudo o que fizeram e fazem por nossa família.

Às minhas irmãs Laís Araújo Rohr Barbieri e Liz Araújo Rohr, e meu cunhado André Gustavo Pinsetta Barbieri pelo parceria e cuidado de sempre. Vocês são indispensáveis em minha vida.

A minha vó, Ottillia Philomena Rohr, pelo carinho infinito.

Vocês me fazem mais forte.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela presença em minha vida, e por sempre me dar conforto e sabedoria.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ) pela oportunidade de fazer Pós-Graduação em uma das melhores Universidades do País.

À Universidade Federal de Viçosa, por ser minha base profissional, instituição onde eu pude me moldar e local do qual guardo ótimas lembranças e grandes amigos.

Ao Prof. Dr. Francisco Guilhien Gomes Junior, pela valiosa orientação, paciência, confiança, preocupação quanto à qualidade do trabalho desenvolvido, pelos conselhos e experiências compartilhadas. Sinto-me honrada pela oportunidade de ter desenvolvido este projeto sob sua orientação.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, em especial aos professores Dr. Silvio Moure Cicero, Dr. Júlio Marcos Filho, e Dra. Ana Dionisia da Luz Coelho Novembre pelos ensinamentos transmitidos na área de sementes.

Ao professor Dr. Hudson Wallace Pereira de Carvalho, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (USP/CENA), por todo suporte ao longo do desenvolvimento deste projeto, todos os questionamentos valiosos e discussões acerca do que desenvolvemos.

À professora Dra. Simone Rodrigues da Silva, pelo auxílio conferido no início desta etapa.

Ao professor Dr. Marcos Kamogawa, pelo engajamento em desenvolver os suportes para as amostras de plântulas para este projeto, contribuindo assim com a qualidade nas análises.

À empresa Sementes Lagoa Bonita, pela prontidão em fornecer as sementes utilizadas nesta pesquisa.

À empresa Agrichem do Brasil S.A., pelo incentivo à pesquisa e pelo fornecimento do produto para o tratamento das sementes.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida no período de agosto de 2019 a outubro de 2019.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida (processo 2019/17967-8) no período de outubro de 2019 a julho de 2021, e demais auxílios financeiros.

À Eng. Agr. MSc. Helena M. C. P. Chamma pela dedicação, amizade, paciência e apoio constante durante a realização deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Adilson, David, Hodair, João e Luis Claudio pela amizade e apoio necessário.

À secretária do programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Angela Marcia Derigi Silva por sempre nos atender com muito carinho, e pelo auxílio durante todo o período de Mestrado.

Aos funcionários da Biblioteca Central da ESALQ, pelo atendimento e atenção dispensada.

Aos amigos do setor de Tecnologia de Sementes da ESALQ, Fabiano França, Carlos Henrique Rego, Artur Silva, Lucas Capelaro, Patricia Galletti, Mayara Rodrigues, Rafael Alves, Abimael Filho e Glória Ribeiro, pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho, amizade e momentos compartilhados.

À Camila Corrêa e ao Gabriel Montanha, do Laboratório de Instrumentação Nuclear (USP/CENA), pelo incansável auxílio e paciência na condução deste projeto.

Aos amigos, pela amizade, por contribuírem de alguma maneira com este trabalho, ou simplesmente estarem presentes neste momento da minha vida. Sempre levarei boas lembranças de cada um.

A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho, para o meu crescimento pessoal e profissional, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Teor de água, curva de embebição e caracterização do potencial fisiológico dos lotes	19
3.1.1 Teor de água.....	19
3.1.2 Curva de embebição.....	20
3.1.3 Germinação	20
3.1.4 Envelhecimento acelerado	20
3.1.5 Emergência de plântulas em areia.....	21
3.1.6 Condutividade elétrica	21
3.1.7 Análise computadorizada de imagem de plântulas (Vigor-S)	21
3.2 Tratamento de sementes com zinco	22
3.3 Avaliação da absorção e distribuição do zinco durante a germinação.....	22
3.3.1 Avaliações em sementes	23
3.3.2 Avaliação em plântulas	24
3.4 Avaliações em plantas no estágio fenológico V2	26
3.4.1 Altura de planta.....	27
3.4.2 Área foliar	27
3.4.3 Volume de raiz e massa de matéria seca da raiz e parte aérea.....	27
3.4.4 Acúmulo de zinco na raiz e na parte aérea.....	28
3.5 Procedimento estatístico	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5. CONSIDERAÇÕES GERAIS	49
6. CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52

RESUMO

Tratamento de sementes de soja com zinco: absorção e distribuição do zinco na germinação e desenvolvimento de plântulas, e sua relação com o desempenho das plantas

O tratamento de sementes com micronutrientes é uma prática eficiente e de baixo custo operacional que aliada ao uso de sementes de alta qualidade pode trazer bons resultados à produtividade de diversas culturas. Para a soja, o zinco (Zn) é um micronutriente que pode ser limitante à produtividade em solos de baixa fertilidade. Porém, um dos aspectos ainda não esclarecidos com relação ao tratamento de sementes de soja com Zn é a dinâmica e absorção do nutriente pelas sementes e seu aproveitamento pelas plantas. Dessa forma, esta pesquisa teve por objetivo avaliar a dinâmica de absorção e distribuição do Zn durante a germinação de sementes de soja de alto e baixo vigor, aplicando-se as doses 0, 2, 4 e 8 g de Zn por kg de semente e verificar os efeitos dessas doses sobre o desempenho das plantas no estágio fenológico V2. As avaliações da absorção e distribuição do Zn foram realizadas por fluorescência de raios X (μ -XRF) nas regiões do tegumento, cotilédone, hilo e eixo embrionário de sementes embebidas durante 8, 16 e 24 horas e na raiz primária, hipocótilo, cotilédone e plúmula de plântulas com 48, 72 e 96 horas de germinação. As plantas foram cultivadas em ambiente controlado até o estágio fenológico V2, utilizando areia como substrato. Em seguida foram realizadas avaliações de altura de planta, área foliar, volume de raiz, massa seca de raiz e parte aérea e concentração de Zn na raiz e parte aérea. Os dados obtidos foram submetidos a análise da variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A mobilização do Zn da região mais externa para a mais interna do cotilédone de sementes de alto e baixo vigor ocorreu com o aumento do tempo de embebição, acompanhando a dinâmica de absorção de água pela semente. As intensidades de Zn no eixo embrionário das sementes de alto vigor, tratadas com as doses de 2 e 4 g.kg⁻¹, foram superiores às das sementes de baixo vigor até 16 horas de embebição, porém, após 24 horas de embebição as sementes de baixo vigor apresentaram maiores intensidades de Zn no eixo embrionário. Maiores intensidades de Zn foram observadas na raiz primária e plúmula de plântulas originadas de sementes de baixo vigor tratadas com a dose de 2 g.kg⁻¹. O tratamento das sementes com as doses de Zn não apresentou efeito sobre o desempenho das plantas no estágio fenológico V2. As sementes com diferentes níveis de vigor, ao serem tratadas com Zn, apresentam comportamentos distintos quanto à dinâmica de absorção e distribuição deste elemento na região do eixo embrionário, porém não apresentam diferença de comportamento na região cotiledonar.

Palavras-chave: *Glycine max*, Vigor, Tratamento de sementes, Zinco, Fluorescência de raios X

ABSTRACT

Soybean seed treatment with zinc: absorption and distribution of zinc during germination, and its relation with initial plant performance

Seed treatment with micronutrients is an efficient and low operating cost practice that combined with the use of high quality seeds, can bring good results to the productivity of different cultures. For soybeans, zinc (Zn) is a micronutrient that can be limiting to productivity in low fertility soils. However, one of the aspects not yet clarified in relation to the treatment of soybean seeds with Zn is the dynamics and absorption of the nutrient by the seeds and its use by the plants. Thus, this research aimed to evaluate the absorption and distribution dynamics of Zn during the germination of high and low vigor soybean seeds, applying doses of 0, 2, 4 and 8 g of Zn per kg of seed and to verify the effects of these doses on the performance of plants at phenological stage V2. The assessments of Zn absorption and distribution were performed by X-ray fluorescence (μ -XRF) in the seed coat, cotyledon, hilum and embryonic axis of seeds soaked for 8, 16 and 24 hours and in the primary root, hypocotyl, cotyledon and plumule of seedlings with 48, 72 and 96 hours of germination. Plants were cultivated in a controlled environment, using sand as substrate, until they reached the phenological stage V2. After that, evaluations of plant height, leaf area, root volume, root dry weight and aerial part and Zn concentration in the root and aerial part were carried out. The data obtained were subjected to analysis of variance and the means were compared using the Tukey test at 5% probability. The mobilization of Zn from the outermost to the innermost region of the cotyledon of high and low vigor seeds occurred with the increase of the imbibition time, following the seed dynamics of water absorption. The intensities of Zn in the embryonic axis of high vigor seeds, treated with doses of 2 and 4 g.kg⁻¹, were higher than those of low vigor seeds until 16 hours of soaking, however, after 24 hours of soaking the low vigor seeds showed higher intensities of Zn in the embryonic axis. Higher Zn intensities were observed in the primary root and plumule of seedlings originated from low vigor seeds treated with a dose of 2 g.kg⁻¹. The treatment of seeds with doses of Zn had no effect on the performance of plants in the phenological stage V2. Seeds with different levels of vigor, when treated with Zn, present different behaviors regarding the dynamics of absorption and distribution of this element in the region of the embryonic axis, however, they do not present any difference in behavior in the cotyledon region.

Keywords: *Glycine max*, Vigor, Seed treatment, Zinc, X-ray fluorescence

1. INTRODUÇÃO

A semente é o principal insumo da agricultura, pois é o veículo para introdução da tecnologia desenvolvida pelo melhoramento genético e está inserida na base da cadeia produtiva. Por isso, o uso de sementes de alta qualidade, ou seja, sementes que atendam aos padrões referentes aos atributos genético, físico, fisiológico e à sanidade deve ser sempre uma exigência dos produtores.

Para a garantia de sementes de alta qualidade aos produtores rurais é indispensável a atuação da pesquisa, sobretudo em culturas de interesse econômico mundial, como é o caso da soja. A sojicultura brasileira possui 52% de participação no mercado internacional de exportação de grãos, 12% nas exportações de óleo de soja e mais 23% nas exportações de farelo de soja (CNA, 2019). A alta demanda pelo grão e seus derivados pressiona o mercado sementeiro ainda mais. Constantes pesquisas tanto pelo setor privado quanto pelo setor público, contribuem para o desenvolvimento tecnológico no setor de produção de sementes de soja e seu contínuo crescimento.

Embora nas últimas décadas novas tecnologias tanto no setor produtivo quanto na análise de sementes tenham contribuído para o ganho de produtividade nas lavouras, ainda existem demandas para serem supridas pela pesquisa e adotadas pelos agricultores. O tratamento de sementes com micronutrientes é uma prática que merece atenção, pois aliado à difusão do tratamento industrial de sementes com fungicidas e inseticidas, pode contribuir com melhorias na produtividade da soja.

O zinco é um micronutriente que pode ser um limitante à produtividade, especialmente na região do cerrado, que apresenta solos naturalmente deficientes em micronutrientes. As funções básicas do zinco nas plantas estão associadas ao metabolismo de carboidratos, proteínas e fosfatos, além da síntese do triptofano que é um precursor da auxina, do RNA, no aumento do tamanho e multiplicação celular, auxiliando na formação dos grãos e na fertilidade dos grãos de pólen. É um micronutriente que desempenha funções ao longo de todo o ciclo de desenvolvimento da planta, logo, sua adição nas fases iniciais de desenvolvimento das plantas através do tratamento de sementes, pode ser vantajosa.

Na definição das melhores doses e fontes de micronutrientes que serão utilizados no tratamento é importante conhecer a dinâmica de absorção e distribuição dos micronutrientes durante a germinação e desenvolvimento das plantas, ao aplicá-los via tratamento de sementes. Uma forma de entender essa dinâmica é por meio de técnicas que permitam entender a condição nutricional inicial da semente e após a aplicação do tratamento via sementes, acompanhar a movimentação dos elementos ao longo do processo de germinação e desenvolvimento das

plantas. Nesse sentido, a técnica de espectroscopia por fluorescência de raios X (XRF), pode ser uma aliada na investigação da dinâmica de absorção e mobilização dos elementos aplicados via tratamento de sementes.

A XRF é um método analítico utilizado para identificar e quantificar elementos químicos em amostras. Esta técnica apresenta sensibilidade para detecção de nutrientes minerais em baixas concentrações e os resultados são obtidos rapidamente. Porém, ainda não existem pesquisas visando avaliar a dinâmica de absorção e distribuição de zinco durante a germinação de sementes de soja. Portanto, os objetivos desta pesquisa foram avaliar a dinâmica de absorção e de distribuição do zinco, aplicado em diferentes doses via tratamento de sementes, durante a germinação de sementes de soja com dois níveis de vigor, utilizando a XRF, e verificar os efeitos das doses sobre o desenvolvimento das plantas no estágio fenológico V2.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A soja [*Glycine max* [L.] Merril] apesar de não ser considerada como alimento básico, é uma das culturas mais importantes do mundo, principalmente como fonte de proteína e óleo vegetal (BEZERRA et al., 2015). O Brasil é o maior produtor de soja do mundo e o maior exportador do grão e seus derivados (EMBRAPA, 2020), tendo a receita proveniente da exportação em 2018, alcançado mais de 23 bilhões de dólares, o que representa mais de 17% do PIB do agronegócio (ABIOVE, 2019). Assim como na produção de grãos, a sojicultura é a que ocupa maior porcentagem de área dentre os campos de produção de sementes no país. De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a safra 2020/2021 totaliza área próxima a 2,5 milhões de hectares cultivados para produção de sementes de soja.

Um dos fatores que contribuem para o sucesso da cultura da soja é o uso de sementes de alta qualidade. A qualidade das sementes envolve a interação de atributos genéticos, físicos, fisiológicos e a sanidade (MARCOS-FILHO, 2015). Em se tratando do potencial fisiológico, o vigor das sementes é um fator muito importante a ser considerado na implantação de uma cultura. Para Tekrony e Egli (1991), o uso de sementes de alto vigor é fundamental para todas as culturas, a fim de assegurar adequada população de plantas sobre uma ampla variação de condições ambientais de campo encontradas durante a emergência.

O vigor de sementes expressa o potencial que existe daquela semente se desenvolver, formar uma planta e ser capaz de produzir frutos e, portanto, deve ser avaliado dessa maneira, pois sua manifestação certamente depende das condições do ambiente. Segundo Marcos-Filho (2015), o conceito de alto e baixo vigor depende do procedimento adotado para sua avaliação e do histórico do lote, mas não há dúvidas de que lotes mais vigorosos têm maior probabilidade de apresentar alto nível de desempenho sob ampla variação das condições de ambiente. O autor ainda destaca que a possível influência do vigor sobre o comportamento das plantas deve ser claramente identificada, tendo em vista que a produção de qualquer cultura é determinada pela capacidade de interceptação e captação da luz solar, a conversão em matéria seca e produção de biomassa, da comunidade vegetal e da interação do processo de crescimento com os fatores ambientais.

Além da tecnologia de sementes, o agricultor dispõe de práticas de manejo que visam proteger e melhorar o desempenho da produção como, por exemplo, o tratamento das sementes com inseticidas e fungicidas, os quais poderão exercer a função de proteção contra à ação de pragas iniciais e de doenças. Outras substâncias, como os nutrientes minerais e os bioestimulantes, aplicados via semente, podem ter função melhoradora do desempenho agrônomo (CÂMARA, 2015).

O tratamento de sementes com micronutrientes é uma prática eficiente para o suprimento nutricional de plantas e segundo Baudet e Peske (2006), no Brasil, cerca de 50% das sementes de soja são tratadas com micronutrientes. Segundo Johnson et al. (2005), os micronutrientes podem ser fornecidos às plantas via solo, foliar ou pelo tratamento de sementes, e por mais que a aplicação foliar tenha apresentado respostas no aumento da produtividade, o alto custo de aplicação restringe a adoção desta prática. Assim, o tratamento de sementes ganha espaço como alternativa viável de suprir a demanda das culturas por micronutrientes.

O princípio do tratamento de sementes com micronutrientes consiste no transporte dos elementos aplicados via semente para a futura planta (CHENG, 1985), sendo a eficácia do tratamento determinada principalmente pela dose do produto utilizado (HALMER, 2008), que pode causar fitotoxicidade quando em excesso.

Outro fator que pode determinar a resposta ao tratamento com micronutrientes é o potencial fisiológico das sementes. Segundo McDonald (1999), plântulas originadas de sementes de vigor mais baixo podem apresentar maior sensibilidade ao efeito fitotóxico dos micronutrientes em comparação às plântulas originadas de sementes de mais alto vigor; isso se deve ao fato das sementes de vigor mais baixo apresentarem naturalmente a perda da integridade de membranas das células e organelas, como consequência do processo de deterioração.

Para a cultura da soja, o zinco (Zn) é um dos micronutrientes com alta possibilidade de resposta, ou seja, a adição deste micronutriente pode trazer efeitos benéficos no desenvolvimento da planta, sendo que a correção da deficiência desse nutriente via tratamento de sementes pode ser mais vantajosa por apresentar maior uniformidade de distribuição, economia de recursos não renováveis, e quando comparada com a aplicação foliar ou via solo, há redução dos custos (SANTOS, 1981; SINGH et al., 2003).

Um outro fator que fundamenta o tratamento de sementes de soja com Zn deve-se à complexidade da dinâmica de absorção deste elemento do solo pelas plantas, sendo influenciada por diversos fatores como o pH do solo, tipo de solo, teor de argila, cátions, ânions, adubação fosfatada e sistema de cultivo (ABREU et al., 2007). A forma mais comum de Zn na solução do solo é o cátion Zn^{2+} , que se movimenta no solo por difusão, a favor do gradiente de concentração, ou seja, de uma região de maior concentração para a de menor concentração. As plantas absorvem o zinco predominantemente como Zn^{2+} , sendo transportado das raízes até a parte aérea pelo xilema, nesta mesma forma (MALAVOLTA, 2006). Porém, o Zn pode ser adsorvido de forma específica pelos colóides do solo, caracterizado por uma ligação de alta energia entre o elemento e o colóide, principalmente em solos altamente intemperizados como

os latossolos (GALRÃO, 2002), tornando-se indisponível para ser absorvido pelas raízes das plantas.

Segundo Malavolta (2006), o Zn é o micronutriente mais limitante à produtividade das culturas no Brasil e isso se deve principalmente à expansão da agricultura na região do Cerrado, que apresenta solos naturalmente deficientes em micronutrientes. O Zn pode ser exigido para a biossíntese de clorofila em algumas plantas (BROADLEY et al., 2007). Suas funções básicas na planta estão associadas ao metabolismo de carboidratos, proteínas e fosfatos, além da síntese do triptofano que é um precursor da auxina, do RNA e dos ribossomos (BORKERT, 1989), no metabolismo dos fenóis, no aumento do tamanho e multiplicação celular, auxiliando na formação dos grãos e na fertilidade dos grãos de pólen (MALAVOLTA et.al, 1991).

O Zn é um nutriente com pouca redistribuição na planta, apresenta baixa mobilidade no floema e o teor de translocação depende de sua disponibilidade na parte vegetativa (MARSCHNER, 1995), assim os sintomas de deficiência de zinco são notados inicialmente nas regiões mais novas da planta. Na soja, a deficiência deste nutriente pode-se caracterizar por folhas novas cloróticas, pequenas e lanceoladas, folhas adultas com coloração castanha, encurtamento dos entrenós, redução na altura de plantas, curvatura da haste principal e redução no número de vagens (CÂMARA, 2015). Plantas com deficiência de Zn no seu estágio inicial de desenvolvimento apresentam crescimento severamente afetado e dificuldade para expressar o potencial genético, pois ocorrem danos à manutenção da atividade enzimática e na enzima sintetase do triptofano, levando à redução do volume celular e crescimento apical, devido à redução da síntese ou degradação de auxinas (EPSTEIN e BLOOM, 2004), o que ressalta a importância do tratamento de sementes como suprimento de Zn às plantas no início do seu desenvolvimento.

Sabe-se que uma das vias de absorção do nutriente aplicado via tratamento de sementes ocorre durante a germinação, no processo de embebição, com posterior transporte para a parte aérea das plântulas (QUEROU et al., 1997; TAYLOR SALANENKA, 2012). De acordo com Bewley e Black (1978), o processo de absorção de água pelas sementes ocorre seguindo um padrão trifásico. A primeira fase, de maneira geral, apresenta duração de oito a dezesseis horas, a segunda duração variável conforme a espécie, sendo que para soja este período pode durar até oito a dez vezes mais que a primeira fase, e o início da terceira fase é identificada pela protrusão da raiz primária.

Os principais eventos verificados ao longo da primeira fase incluem o reparo do sistema de membranas, reparo do DNA, início da hidrólise de proteínas de reserva, a ativação da respiração, ativação de polissomos, ativação do metabolismo de aminoácidos, síntese de

mRNA, o início da transcrição de mRNA, o reparo e multiplicação de mitocôndrios, e a ativação da síntese de proteínas (CASTRO e HILHORST, 2000; OBROUCHEVA, 2010; BEWLEY et al., 2013).

A segunda fase, caracterizada por uma redução na velocidade de hidratação, é limitada por atividades de recuperação da integridade celular, como o reparo e multiplicação de mitocôndrios, reparo de DNA, a transcrição e tradução “de novo” mRNA, síntese “de novo” de enzimas, e pelo início da respiração, o que resulta na consequente degradação de reservas e início da mobilização dessas reservas, o acúmulo de solutos, e de forma subsequente, inicia-se o preparo para o alongamento celular e o começo do alongamento das células da radícula. (CASTRO e HILHORST, 2000; OBROUCHEVA, 2010; BEWLEY et al., 2013; MARCOS-FILHO, 2015).

A terceira fase é caracterizada pela retomada do crescimento do embrião e visível protusão da raiz primária. As principais ocorrências desta fase são o transporte de hormônios para os tecidos de reserva, a mobilização de reservas, o transporte de reservas para os pontos de crescimento do embrião e assimilação, o alongamento celular, início das divisões celulares, emergência da raiz primária, e o crescimento da plântula (CASTRO e HILHORST, 2000; OBROUCHEVA, 2010; BEWLEY et al., 2013; MARCOS-FILHO, 2015).

McDonald et al. (1988ab) estudaram a função de cada estrutura da soja no processo de absorção de água. De acordo com os autores, o tegumento desempenha inicialmente um papel de retardador da absorção de água e em seguida, facilita a movimentação da água no interior da semente, contribuindo para a manutenção do teor de água adequado durante à embebição. Na pesquisa, os autores revelam que no início da embebição, a água penetra principalmente pela extremidade oposta ao hilo, porém, com o decorrer da embebição, a maior quantidade de água entra pela região mais próxima ao hilo e à micrópila. Os autores descrevem que a absorção de água pelo eixo embrionário da soja é inicialmente caracterizada por uma rápida fase de absorção, uma fase de platô, seguida novamente por uma rápida absorção devido ao crescimento do eixo, que é evidenciado pela emergência da raiz primária.

Um dos aspectos pouco esclarecidos com relação ao tratamento de sementes de soja com Zn é em relação à dinâmica de absorção do elemento pelas sementes e seu aproveitamento pelas plantas. Assim, entender o processo de embebição e realizar a avaliação da dinâmica de absorção e distribuição do Zn disponibilizado via tratamento de sementes apresentando diferentes níveis de vigor é fundamental para o entendimento do aproveitamento desse nutriente pelas plantas de soja.

A análise química de plantas a partir da extração dos elementos dos tecidos vegetais pode se dar através de diferentes métodos, como por exemplo o de digestão nitro-perclórica, o método de Tedesco et al. (1995) e o de Adler e Wilcox, sendo estas análises formas de avaliar a qualidade nutricional das plantas e ainda, como destaca Tedesco et al. (1995), a melhor forma de avaliar a disponibilidade de um nutriente ou composto aplicado ao solo. Em trabalho realizado por Vaccaro et al. (2004), foi realizada a comparação dos três métodos de extração citados acima, e identificou-se variação nos resultados apresentados entre os testes. Assim, evidencia-se a importância da escolha de um método de extração adequado para o elemento em questão, e a pesquisa de diferentes métodos analíticos que possam fornecer resultados multielementares e de forma rápida. Neste contexto, a espectroscopia por fluorescência de raios X (XRF) pode ser explorada na análise de tecidos vegetais.

O princípio da técnica de XRF para análise química de materiais está representado na Figura 1. Quando um átomo é irradiado com partículas como as de fótons e elétrons de raios X, desde que tenham energia suficiente, elas podem expelir um elétron do átomo, produzindo um ‘buraco’ na camada de onde o elétron foi expelido. Esse ‘buraco’ na camada também é chamado de vacância inicial. O átomo busca restaurar imediatamente sua configuração inicial, pela transferência de um elétron de uma camada externa para a camada interna. Um elétron do orbital L, por exemplo, tem maior energia do que um elétron do orbital K, e quando um elétron do orbital L é transferido para o orbital K, a energia excedente pode ser emitida como um fóton de raios X. Em um espectro, isso é visto como uma linha (BROUWER, 2010).

Esquema adaptado de Bruker©

Figura 1. Modelo atômico para o método de análise por fluorescência de raios X.

Essa energia emitida como um fóton de raios X depende da diferença de energia entre a camada com a vacância inicial e a energia do elétron que preenche essa vacância. Cada átomo tem seus níveis de energia específicos, então a radiação emitida é característica para cada átomo. Um átomo emite mais do que uma única energia (ou linha), pois diferentes vacâncias podem ser produzidas e diferentes elétrons podem preencher esta vacância. A coleção das linhas emitidas é uma característica de cada elemento e pode ser considerada uma digital do elemento (BROUWER, 2010).

A XRF é uma técnica analítica consolidada, utilizada para análises multielementares qualitativas e quantitativas (VAN GRIEKEN e MARGUÍ, 2013). Entre as vantagens da fluorescência de raios X para a análise química de elementos pode-se citar: (a) adaptabilidade para automação, (b) análise rápida multielementar, muito importante devido a interdependência entre os micronutrientes nos sistemas biológicos, (c) preparação simplificada da amostra e (d) limite de detecção dentro do exigido por muitas amostras biológicas (NASCIMENTO FILHO, 1999). Porém, devido às dimensões que os instrumentos laboratoriais de XRF possuem, acabam restringindo e exigindo certa homogeneidade da amostra e uma determinada geometria padrão. Assim, os altos graus de qualidade e sensibilidade convivem com a desvantagem que se dá à custa da baixa flexibilidade, no que concerne ao número “reduzido” de tipos de amostras que podem ser analisadas (NASCIMENTO DIAS et al., 2017).

Conforme destacado anteriormente, a XRF envolve a irradiação da amostra com raios X de energia definida, o que promove a excitação e a ejeção dos elétrons do núcleo dos átomos

com uma energia de ligação menor do que a energia incidente dos raios X. Porém, quando é utilizado um feixe micrométrico de raios X para coletar informações, a análise é denominada microanálise por fluorescência de raios X (μ -XRF) (ZHAO et al., 2014).

Diferentes elementos foram analisados por μ -XRF em variadas situações de interesse agrônomo, como na determinação da quantidade de cádmio em plantas hiperacumuladoras, com finalidade de uso em biorremediação (FUKUDA et al., 2008); no estudo de mecanismos de controle de absorção, transporte e armazenagem de metais essenciais e não essenciais nas plantas (PUNSHON et al., 2009); para o entendimento dos efeitos de diferentes concentrações de nanopartículas de cobre e sua estrutura na germinação e desenvolvimento de plântulas de feijão (DURAN et al., 2017); na caracterização fisiológica, bioquímica e estrutural da toxicidade de selênio em feijão-caupi (SILVA et al., 2018); na determinação *in situ* de potássio, cálcio, enxofre e silício em folhas de cana de açúcar (GUERRA et al., 2018); no estudo da absorção e transporte foliar do zinco em plantas de soja (GOMES et al., 2019), entre outros. Em feijão, por exemplo, a aplicação de nanopartículas de CuO via solução de embebição em sementes e avaliação da absorção por μ -XRF revelou que a maior parte do cobre permaneceu no tegumento da semente e em algumas regiões do hilo (DURAN et al., 2017). Os autores também observaram, nas análises *in vivo*, a distribuição do cobre na extremidade da raiz primária, que permaneceu na mesma posição sem ser diluído durante o processo de crescimento.

Conforme destacado anteriormente, diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas utilizando a μ -XRF na agricultura. Entretanto, estudos com sementes de soja ainda são escassos, principalmente utilizando sementes de lotes com diferentes níveis de vigor. São raros os relatos científicos de avaliações *in vivo* da dinâmica de absorção e distribuição de minerais durante o processo de germinação assim como dos efeitos sobre o crescimento inicial das plantas. Neste sentido, o uso da técnica de μ -XRF para a avaliação do tratamento de sementes de soja com zinco pode ser promissor para o entendimento da dinâmica de absorção e distribuição do nutriente nas sementes durante a germinação e no desenvolvimento inicial das plantas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Análise de Sementes, Laboratório de Análise de Imagens e Laboratório Multiusuário do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP/ESALQ), em Piracicaba-SP e no Laboratório de Instrumentação Nuclear do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo (USP/CENA), também localizado em Piracicaba-SP.

Foram utilizados dois lotes de sementes de soja do cultivar M5917 IPRO, peneira 6,5 mm. Os lotes utilizados possuíam diferentes níveis de vigor (Lote 1 – Safra 2018/2019 e Lote 2 – Safra 2016/2017) e germinação superior aos padrões exigidos para comercialização de sementes estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). As sementes permaneceram armazenadas em sacos de papel *kraft*, em câmara fria e seca, a 10 °C e 30% de umidade relativa do ar ao longo de todo o período experimental, visando evitar o progresso intenso da deterioração.

3.1 Teor de água, curva de embebição e caracterização do potencial fisiológico dos lotes

Os testes de teor de água, germinação e vigor (envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em areia, condutividade elétrica e análise computadorizada de imagens de plântulas) são testes de rotina em laboratórios de análise de sementes, e foram realizados a fim de caracterizarmos os lotes utilizados no experimento. Já a curva de embebição, foi realizada a fim de obtermos informações sobre o processo de absorção de água de sementes de diferentes níveis de vigor.

3.1.1 Teor de água

Determinado pelo método da estufa a 105°C (± 3 °C) por 24 horas (BRASIL, 2009), utilizando-se duas repetições de 5,0 g de sementes de cada lote. Os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida) por lote. O mesmo procedimento foi adotado após o teste de envelhecimento acelerado.

3.1.2 Curva de embebição

Realizada de acordo com metodologia descrita por Santos et al. (2007). Para isso, foram utilizadas 200 sementes de cada lote, divididas em 4 subamostras de 50 sementes, as quais foram pesadas em balança de precisão (0,0001 g) para determinação da massa inicial (m_i). As subamostras foram envolvidas em papel-toalha para germinação umedecido, e acondicionados em um germinador a 25 °C. Em intervalos de duas horas em um período de 26 horas, as amostras foram retiradas do germinador, secadas em papel-toalha a fim de retirar o excesso de água superficial, e em seguida, pesadas em balança de precisão (0,0001 g) para obtenção da massa final (m_f) da amostra. Os resultados foram apresentados em teor de água (%TA), e foram calculados através da fórmula $\%TA = \frac{(m_f - m_i)}{m_i} \times 100$. Os valores obtidos foram utilizados para elaborar a curva de embebição de cada lote.

3.1.3 Germinação

Avaliada com quatro repetições de 50 sementes de cada lote, em rolos de papel-toalha umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco, a 25 °C. As avaliações foram realizadas aos cinco (primeira contagem de germinação) e oito dias após a semeadura, contabilizando a percentagem total de plântulas normais (BRASIL, 2009).

3.1.4 Envelhecimento acelerado

Quatro repetições de 50 sementes de cada lote foram distribuídas em camada única sobre tela metálica suspensa no interior de caixas de plástico transparentes (11,0 x 11,0 x 3,0 cm), contendo 40 ml de água destilada no fundo. As caixas foram mantidas a 41 °C, durante 48 e 24 horas em incubadora do tipo BOD, segundo metodologia descrita por Dutra e Vieira (2004). Após este período, foi instalado o teste de germinação, conforme descrito anteriormente, e a avaliação foi realizada cinco dias após a instalação do teste; os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais.

3.1.5 Emergência de plântulas em areia

Quatro repetições de 50 sementes de cada tratamento foram semeadas à 2 cm de profundidade, em caixas de plástico (32,0 x 28,0 x 10,0 cm) contendo areia média umedecida com 60% da capacidade de retenção de água, sem adubação complementar. As avaliações foram realizadas diariamente, realizando a contagem do número de plântulas emersas em cada repetição até o décimo dia após a instalação do teste, quando ocorreu a estabilização da emergência das plântulas. O índice de velocidade de emergência de plântulas foi determinado utilizando-se o método proposto por Maguire (1962). Foram consideradas plântulas emersas aquelas que apresentaram os cotilédones acima da superfície do substrato (COSTA e MARCHEZAN, 1982). Os resultados foram expressos em percentagem de plântulas emersas.

3.1.6 Condutividade elétrica

Determinada conforme metodologia proposta pelo Comitê de Vigor da AOSA (2009). Quatro repetições de 50 sementes foram previamente pesadas, em balança de precisão (0,001 g); em seguida, as sementes foram colocadas em copos de plástico preenchidos com 75 ml de água deionizada. Os copos foram mantidos durante 24 horas à 25 °C (CUSTÓDIO e MARCOS-FILHO, 1997). A leitura da condutividade elétrica foi realizada em condutivímetro DIGIMED®, modelo DM-31, e os resultados foram expressos em $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de semente.

3.1.7 Análise computadorizada de imagem de plântulas (Vigor-S)

Realizada pelo software Vigor-S, com cinco repetições de 20 sementes por lote. As sementes foram distribuídas em duas fileiras no terço superior de duas folhas de papel-toalha e cobertas com uma terceira folha, confeccionando o rolo. O substrato foi previamente umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes à sua massa seca. Os rolos foram mantidos em germinador por 72 horas, a 25 ± 1 °C. Após este período as plântulas foram transferidas para uma folha de E.V.A (etil vinil acetato) de coloração azul, proporcionado assim o contraste necessário para análise pelo sistema e, em seguida, as imagens foram digitalizadas por meio de escâner HP scanjet 200, ajustado em resolução de 300 dpi, instalado em posição invertida no interior de uma caixa de alumínio (60,0 x 50,0 x 12,0 cm) e acoplado a um computador. As imagens foram processadas pelo software Vigor-S, sendo obtidos os índices de vigor e

uniformidade de desenvolvimento, compreendendo valores de 0 a 1000, sendo o vigor das sementes proporcional a estes valores, conforme Rodrigues et al. (2020). Além disso, foram obtidos resultados médios do comprimento do hipocótilo e da raiz primária das plântulas das repetições de cada lote, com resultados expressos em centímetros.

3.2 Tratamento de sementes com zinco

As sementes de cada lote foram tratadas com a dose recomendada (2 g de zinco por kg de semente) e nas doses crescentes de 4, e 8 g de zinco por kg de semente, sendo a testemunha o tratamento com 0 g de Zn por kg sementes. O produto utilizado foi o Maxi Zinc, produto comercial a base de óxido de zinco. O tratamento foi realizado em amostras de 500 g de sementes, que foram pesadas e inseridas em sacos plásticos com capacidade para 1 kg. Em seguida, a respectiva dose foi adicionada ao saco utilizando-se uma seringa graduada em mililitros. Os sacos foram agitados manualmente e de forma constante por 5 minutos. Posteriormente, as sementes foram espalhadas em bandejas plásticas até a secagem do produto aderido ao tegumento e, em seguida, armazenadas em sacos de papel tipo *kraft*.

O efeito das doses de zinco no potencial fisiológico das sementes dos dois lotes foi avaliado pelo teste de germinação e testes de vigor descritos anteriormente (itens 3.1.3 a 3.1.7).

3.3 Avaliação da absorção e distribuição do zinco durante a germinação

A absorção e a distribuição de Zn durante o processo de embebição da semente e do desenvolvimento da plântula foi avaliada pela microanálise por fluorescência de raios X (μ -XRF). A μ -XRF para análise do Zn em sementes e plântulas foi realizada utilizando-se uma microsonda de espectroscopia de fluorescência de raios X de bancada (Orbis PC, EDAX, USA), operada com tubo de raios X Rh a 45 kV e 500 μ A, utilizando-se um filtro de Ni de 25 μ m, sem vácuo, feixes de raios X policapilar de 30 μ m e tempo de análise em *linescan* (análise em linha) de 20 segundos por ponto. Os resultados da intensidade de zinco foram expressos em contagem por segundo (cps). Os resultados das intensidades de Zn-K α em plântulas foram normalizados por sua respectiva intensidade de Rh-K α Compton ROI (região de interesse), a fim de corrigir a variação de espessura entre as regiões da amostra.

3.3.1 Avaliações em sementes

As sementes embebidas provenientes dos Lotes 1 e 2 foram cortadas em duas secções paralelas, utilizando-se uma lâmina de barbear, a fim de se obter uma superfície plana. Posteriormente, foram posicionadas em um porta amostra (Chemplex no. 1530, USA), montado com um filme fino de polipropileno de 6 μm (VHG, USA) (Figura 2).

Figura 2. Preparação das amostras para análise no equipamento Orbis PC Micro-XRF Analyzer. Corte das sementes (a) e posicionamento no porta amostra sobre filme de polipropileno (b).

As avaliações foram realizadas após 8, 16 e 24 horas de embebição das sementes em rolos de papel-toalha, a 25 °C. Foram utilizadas cinco repetições (sementes) por tratamento e as análises por μ -XRF foram realizadas em diferentes regiões: tegumento (região oposta ao hilo), cotilédone e hilo, por meio de um *linescan*, no qual foram analisados 32 pontos consecutivos (Figura 3). As avaliações no eixo embrionário foram realizadas medindo-se quatro pontos (1 na região do meristema radicular, 1 na região do meristema plumular e 2 na região do hipocótilo, sendo 1 em posição mais próxima à radícula e outro mais próximo à plúmula), conforme apresentado na Figura 4. Os dados provenientes das avaliações de *linescan* e dos pontos no eixo do embrião foram processados pelo software gráfico OriginLab®.

Figura 3. Representação das análises de *linescan* por μ -XRF em sementes de soja após 8 horas (a), 16 horas (b) e 24 horas (c) de embebição.

Figura 4. Representação dos pontos da análise por μ -XRF no eixo do embrião das sementes.

3.3.2 Avaliação em plântulas

A absorção e o transporte de Zn durante o processo de desenvolvimento da plântula foram monitorados *in vivo* por μ -XRF. De forma similar às sementes, as plântulas originadas de sementes dos Lotes 1 e 2 foram submetidas à análise por μ -XRF utilizando-se o equipamento descrito anteriormente e utilizando as mesmas configurações, com exceção do tempo de análise, que foi de 30 segundos por ponto.

Para a obtenção das plântulas, as sementes foram colocadas para germinar em rolos de papel-toalha umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco, à 25 °C. Para a análise de plântulas no equipamento Orbis PC EDAX, foi desenvolvido um porta amostra específico que permitiu o posicionamento ideal da plântula. O porta amostra foi desenvolvido em impressão 3D (GTMax3D, Core H4), impresso em polímero ABS, utilizando-se para a modelagem 3D o software online Tinkercad[®] e para geração do arquivo de fatiamento o software Simplify3D[®], no Laboratório de Análises Químicas do Departamento de Ciências Exatas da USP/ESALQ (Figura 5 a, b).

Figura 5. Impressora 3D (a), porta amostras para análise de plântulas (b) e posicionamento das plântulas no porta amostras (c).

O preparo da amostra foi realizado utilizando-se lâmina de barbear, e consistiu na retirada de um dos cotilédones da plântula, a fim de expor a plúmula para avaliação (Figura 6). O porta amostra foi recoberto com papel-toalha umedecido, a fim de evitar a desidratação da plântula que foi posicionada sobre o papel-toalha (Figura 5c).

Figura 6. Preparo de amostra de plântula para análise: região de corte (a), amostra pronta para ser colocada no porta amostra (b).

As avaliações de μ -XRF em plântulas foram realizadas 48, 72 e 96 horas após a instalação do teste de germinação. Tendo como base os resultados observados em sementes, foram realizadas as análises em plântulas com 3 tratamentos de doses de zinco (0, 2 e 8 g de zinco por kg de sementes), com cinco repetições (plântulas) por tratamento. O tratamento 4

g.kg^{-1} não foi realizado na análise em plântulas, pois não houve diferença discrepante do comportamento das sementes entre esta dose e a dose de 2 g.kg^{-1} .

A análise foi realizada pontualmente nas regiões da plúmula, cotilédone (região interna), tegumento, meristema radicular primário e hipocótilo, amostrando-se 3 pontos por região (Figura 7). Os dados obtidos foram processados pelo software gráfico OriginLab®.

Figura 7. Representação da análise pontual por μ -XRF em diferentes regiões em plântulas de soja originadas de sementes de alto e baixo vigor (A) e detalhamento do ponto amostral (pequeno ponto vermelho no centro de cada quadrado em a, b, c, d, e) em cada uma das regiões avaliadas (B).

3.4 Avaliações em plantas no estágio fenológico V2

O experimento foi conduzido em ambiente de laboratório a 25°C , com umidade relativa e iluminação controladas. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento (0, 2, 4 e 8 g de zinco por kg de sementes). Cada repetição foi composta de copos de plástico com 300 cm^3 de areia média lavada, semeando-se duas sementes por copo. Após a emergência das plântulas foi realizado o desbaste deixando-se apenas uma plântula por copo para desenvolvimento até o estágio fenológico desejado. A areia utilizada como substrato foi caracterizada previamente quanto à sua constituição química por meio de

análise de solo para verificar se não havia contaminação com elementos químicos. No estágio fenológico V2 descrito por Fehr e Caviness (1977), foram realizadas as seguintes avaliações:

3.4.1 Altura de planta

Determinada utilizando-se uma régua graduada e medindo-se desde o colo da planta no nível do substrato até a última folha do caule principal. Os resultados foram expressos em centímetros por planta.

3.4.2 Área foliar

As folhas unifolioladas e folíolos do primeiro trifólio de cada planta foram retiradas e transferidas para uma folha de E.V.A (etil vinil acetato) de coloração azul de tamanho 21×29,7 cm (A4). Uma régua graduada em milímetros foi posicionada na base da folha de E.V.A para utilização como escala de calibração. Em seguida, as folhas e os folíolos foram fotografados com câmera de celular (12 megapixels) e posteriormente foram submetidas à análise de área foliar utilizando o software ImageJ[®]. Os resultados foram expressos em cm² por planta.

3.4.3 Volume de raiz e massa de matéria seca da raiz e parte aérea

As plantas foram removidas dos copos, lavadas sob água corrente, e a parte aérea de cada planta (caules, hastes e folhas) foi separada das raízes. As raízes foram mantidas em bandejas com água, a fim de evitar a desidratação dos tecidos. Para a aquisição das imagens, as raízes foram posicionadas em uma bandeja de acrílico transparente (40 cm x 30 cm x 2 cm) contendo água e escaneadas por meio de escâner (Epson Expression 10000 XL) ajustado com resolução de 400 dpi. Posteriormente foi realizada a medição do volume de raiz utilizando o software WinRHIZO[™] versão Pro. Os resultados foram expressos em cm³ por planta.

Após a determinação do volume de raiz, realizou-se a determinação da massa de matéria seca da raiz e da parte aérea mediante secagem em estufa a 65 °C por 72 horas e pesagem em balança de precisão com três casas decimais (0,001 g). Os resultados foram expressos em gramas por planta para cada parte separadamente.

3.4.4 Acúmulo de zinco na raiz e na parte aérea

Determinado em cada parte da planta (raiz e parte aérea) através da técnica de espectroscopia por fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDXRF). Após a determinação da massa de matéria seca (item 3.4.3), as raízes e a parte aérea foram moídas utilizando-se moinho IKA[®] A10 para uma moagem inicial, em seguida foram novamente moídas utilizando-se moinho vibratório Retsch[®] e posteriormente passadas em peneiras 140 mesh (n° malhas.cm⁻²) para obtenção de amostras com tamanho $\leq 110 \mu\text{m}$. Após moídas e peneiradas, as amostras foram pesadas em balança de precisão (0,001 g), sendo 100 mg colocados em porta amostras (Spex SamplePrep no. 3577, USA), montado com um filme fino de polipropileno de 6 μm (VHG, USA). As análises foram realizadas em equipamento EDXRF (Shimadzu EDX-720, Japan) utilizando curva de calibração externa baseada em celulose. Os resultados foram expressos em quantidade (mg.kg⁻¹) de Zn nos tecidos.

3.5 Procedimento estatístico

Os resultados dos testes de germinação e de vigor para verificação inicial do potencial fisiológico dos lotes foram submetidos a análise da variância e comparados pelo teste F. Os efeitos das doses de zinco sobre o potencial fisiológico das sementes e no desenvolvimento de plântulas foram submetidos a análise da variância e as médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey. Posteriormente, os resultados foram submetidos aos desdobramentos da análise de regressão.

Os experimentos para avaliações da planta no estágio fenológico V2 foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4 (Lotes: 1 e 2; e doses: 0, 2, 4, 8 g de zinco por kg⁻¹ de semente), com 5 repetições de cada tratamento. Os dados foram submetidos a análise da variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Os experimentos das análises de espectroscopia de fluorescência de raios X em sementes, plântulas e plantas foram conduzidos da mesma forma.

Todas as análises foram realizadas à 5% de probabilidade de erro, por meio do sistema computacional SAS Institute Inc., Cary. MC., USA 2010, versão 9.4.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um dos aspectos importantes no tratamento de sementes é a uniformidade de distribuição dos produtos aplicados. Nas sementes utilizadas nesta pesquisa é possível observar variações quanto à uniformidade de recobrimento entre as doses de zinco (Figura 8). A aplicação da dose de 8 g.kg⁻¹ resultou em maior desuniformidade de recobrimento no tegumento das sementes e perdas de produto (aderência de produto nas paredes do saco de plástico utilizado para realização do tratamento).

Figura 8. Aspecto das sementes de soja sem tratamento com Zn (a) e após submetidas ao tratamento nas doses de 2, 4 e 8 gramas de Zn por kg de semente (b, c, d respectivamente).

Nesta pesquisa optou-se por este tipo de tratamento, que se assemelha ao tratamento utilizado pelos produtores na fazenda (*on farm*), tendo em vista o pequeno volume de sementes tratadas. Porém, evidencia-se que em se tratando de escala comercial, o tratamento industrial de sementes seria o mais indicado, pois possui qualidade superior ao tratamento *on farm*, devido à precisão da dose, melhor uniformidade de recobrimento e aderência dos produtos aplicados, melhor plantabilidade, maior segurança dos operadores na aplicação, e a possibilidade da aplicação de produtos de recobrimento a base de polímeros sintéticos que protegem as sementes e melhoram o desempenho no campo (PARISI e MEDINA, 2013; DEL BEM JUNIOR, 2017).

As sementes dos dois lotes apresentaram diferenças de 0,3 pontos percentuais no teor de água (Tabela 1). Essa variação, inferior a dois pontos percentuais, é adequada para a comparação entre os resultados de germinação e de vigor (MARCOS-FILHO, 2015). Ressalta-

se que ambos os lotes superaram a germinação mínima estabelecida para comercialização de sementes de soja no Brasil ($G \geq 80\%$).

Tabela 1 - Teor de água (TA), germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), envelhecimento acelerado durante 24 horas (EA 24h), envelhecimento acelerado durante 48 horas (EA 48h), emergência de plântulas em areia (E), condutividade elétrica (CE), índice de velocidade de emergência (IVE), índice de vigor (IV), uniformidade de desenvolvimento de plântulas (U), comprimento de hipocótilo (CH) e comprimento de raiz (CR) de dois lotes de sementes de soja (L1 e L2), cultivar M5917 IPRO.

Lote	TA	G	PC	EA 24h	EA 48h	E	CE	IVE	IV	U	CH	CR
			----- % -----				$\mu\text{S.cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$	índice	índice	índice	----- cm -----	
L1	7,3	96	96	94	93	100	113,7	11,6	782	807	2,98	5,42
L2	7,0	86	85	83	52	91	159,7	8,5	427	714	1,82	2,00
Valor F		44,31*	607,54*	98,97*	217,81*	762,85*	50,54*	426,84*	918,03*	38,50*	257,23*	572,52*
CV (%)		4,52	1,56	4,16	11,86	0,98	14,95	4,64	6,15	6,21	9,55	12,19

ns: não significativo; * significativo a 5% de probabilidade.

Os resultados dos testes de germinação e vigor evidenciaram diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste F entre os dois lotes de sementes, constituindo-se assim os lotes de alto vigor (L1) e de baixo vigor (L2) utilizados no experimento. Ressalta-se que para a condução desta pesquisa essas diferenças de potencial fisiológico eram desejadas para a verificação dos efeitos do tratamento das sementes com zinco.

Na avaliação dos efeitos das doses de zinco sobre no potencial fisiológico das sementes verificou-se fitotoxicidade do tratamento com a dose de 8 g.kg^{-1} em ambos os lotes (Tabela 2). De maneira geral, os efeitos das doses de zinco foram mais drásticos no lote de baixo vigor. Ribeiro et al. (1992) observaram resultados similares em sementes de milho. No trabalho, os autores verificaram redução da germinação e do vigor de sementes de milho com diferentes níveis de qualidade, concluindo que os efeitos negativos foram devido à interação entre a baixa qualidade das sementes e doses elevadas de zinco.

Tabela 2 - Germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), envelhecimento acelerado durante 24 horas (EA 24h), envelhecimento acelerado durante 48 horas (EA 48h), emergência de plântulas em areia (E), índice de velocidade de emergência (IVE), índice de vigor (IV), uniformidade de desenvolvimento de plântulas (U), comprimento de hipocótilo (CH) e comprimento de raiz (CR) de dois lotes de sementes de soja do cultivar M5917 IPRO, após o tratamento com doses crescentes de zinco.

Dose (Zn)	G	PC	EA 24h	EA 48h	E	IVE	IV	U	CH	CR
g.kg ⁻¹	-----%-----					(índice)	(índice)	(índice)	----- cm -----	
L1: alto vigor										
0	96 a ¹	96 a	94 a	95 a	100a	11,7 a	797 ab	859 a	3,26 a	6,09 a
2	96 a	96 a	94 a	94 a	99 a	11,7 a	774 ab	790 ab	3,18 ab	5,47 ab
4	98 a	98 a	96 a	94 a	99 a	11,5 a	820 a	822 ab	2,96 ab	5,43 ab
8	93 a	91 b	91 a	91 a	96 b	11,3 a	738 b	755 b	2,52 b	4,70 b
CV (%)	3,71	1,04	3,51	2,44	0,72	2,82	5,75	6,15	9,69	9,27
L2: baixo vigor										
0	86 ab	85 b	86 a	38 b	92 a	9,2 a	461 a	766 a	1,84 a	2,03 a
2	90 a	88 a	86 a	59 a	92 a	8,8 ab	430 ab	712 ab	1,85 a	2,03 a
4	88 ab	87 a	82 ab	64 a	91 a	8,1 b	428 ab	721 ab	2,01 a	2,19 a
8	80 b	78 c	78 b	47 b	88 b	7,9 b	386 b	658 b	1,57 b	1,74 a
CV (%)	5,25	0,84	2,88	11,07	0,88	6,06	6,22	6,80	6,33	15,45

¹ Médias seguidas de letras diferentes dentro de cada coluna para cada lote diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto ao lote de alto vigor, apesar de não existirem diferenças significativas entre as doses para as avaliações de G, EA (24h), EA (48h) e IVE, a dose de 8 g.kg⁻¹ apresentou médias inferiores às demais doses, indicando efeito fitotóxico. Este efeito foi evidenciado nas avaliações de PC, E, IV, U, CH e CR. Quanto ao lote de baixo vigor, os efeitos fitotóxicos da aplicação da dose de 8 g.kg⁻¹ foram observados em todos os testes de potencial fisiológico, com exceção do CR. Segundo Malavolta (2006), o zinco é requerido em pequenas quantidades, apresentando uma faixa estreita entre o efeito benéfico e a toxicidade, o que pode explicar as reduções observadas no potencial fisiológico das sementes com a aplicação da dose 8 g.kg⁻¹. Quando em altas concentrações nas plantas, o Zn acarreta na redução da produção de matéria seca da parte aérea e radicular, podendo levar a necrose da radícula, morte da plântula e inibição do crescimento vegetal (Carneiro et al. 2002, Li et al. 2011)

Os efeitos do tratamento de sementes de soja com zinco também foram avaliados por Lemes et al. (2017). Os autores identificaram que os tratamentos nas doses entre 2 e 6 g.kg⁻¹ de sementes apresentaram os melhores resultados para a manutenção do potencial fisiológico. França-Neto et al. (2011) observaram efeitos positivos no desenvolvimento de plântulas após a

aplicação de zinco (Maxi Zinc) via tratamento de sementes de soja, na dose de 5 g.kg⁻¹ de sementes quando comparado à testemunha.

A análise de regressão ajustada a partir dos dados dos testes de avaliação do potencial fisiológico das sementes revelou resultados significativos ($p < 0,05$), indicando relação direta do fator vigor das sementes (v) na estimativa dos resultados dos testes de avaliação do potencial fisiológico (variáveis). Além disso, a análise de regressão revelou efeito negativo do fator dose (d) sobre a estimativa dos resultados dos testes de avaliação do potencial fisiológico, com exceção do teste de envelhecimento acelerado 48 horas e do comprimento de hipocótilo e da raiz, indicando que quanto maior a dose, menor os resultados das variáveis testadas (Tabela 3). O fator vigor foi o que melhor contribuiu para a elaboração das equações do modelo, sendo que quanto maior o vigor, maiores os valores das variáveis testadas.

Tabela 3 – Equações do modelo, R^2 e significância referentes à germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), envelhecimento acelerado durante 24 horas (EA 24h), envelhecimento acelerado durante 48 horas (EA 48h), emergência de plântulas em areia (E), índice de velocidade de emergência (IVE), índice de vigor (IV), uniformidade de desenvolvimento de plântulas (U), comprimento de hipocótilo (CH) e comprimento de raiz (CR) em dois lotes de sementes de soja do cultivar M5917 IPRO, após o tratamento com doses de zinco.

Variável	Equação do modelo	R^2	Significância
G	$Y = 89,27 + 9,25v - 0,72d$	0,8952	*
PC	$Y = 87,34 + 10,9v - 0,82d$	0,8671	*
EA (24h)	$Y = 85,53 + 10,7v - 11,59d$	0,7956	*
EA (48h)	$Y = 51,46 + 41,6v - 0,09d$	--	NS
E	$Y = 92,16 + 8,15v - 0,41d$	0,9534	*
IVE	$Y = 8,91 + 3,05v - 0,11d$	0,9207	*
IV	$Y = 452,9 + 356,01v - 7,53d$	0,9579	*
U	$Y = 755,1 + 92,68v - 11,59d$	0,5971	*
CH	$Y = 1,81 + 1,16v - 0,004d$	--	NS
CR	$Y = 2,03 + 3,34v - 0,009d$	--	NS

* = Significativo à 5% de probabilidade; NS = Não significativo; v (β_1) = vigor; d (β_2) = dose.

Os resultados apresentados na Tabela 3 indicam que os modelos são válidos para estimar os resultados das avaliações de PC, G, E, IVE, EA (24h), IV e U, demonstrando que pelo menos um dos fatores (vigor ou dose) exerce influência significativa na estimativa dos resultados. Os modelos que melhor explicaram a relação do vigor e da dose de zinco, foram as equações de PC, G, E, IVE, EA (24h) e IV. Dentre os modelos significativos, aqueles referentes à E e IV foram os com melhor ajuste, em que 95% dos dados explicam o modelo. Ressalta-se que nesta

pesquisa a inclusão do teste de envelhecimento acelerado a 41 °C durante 24 horas foi com o objetivo de obter um efeito menos drástico em comparação ao teste tradicionalmente utilizado (41 °C durante 48 horas). Para alguns cultivares de soja, o envelhecimento acelerado durante 48 horas tem provocado efeitos muito drásticos, dificultando a identificação de diferenças entre os tratamentos aplicados às sementes. Isso foi constatado nesta pesquisa, principalmente com relação ao lote de baixo vigor. Observa-se na Tabela 2 baixos percentuais de plântulas normais após envelhecimento acelerado das sementes do Lote 2 durante 48 horas em comparação ao teste realizado durante 24 horas, dificultando a manifestação dos efeitos das doses de zinco aplicadas de maneira coerente com os demais testes de vigor.

Na Figura 4 encontra-se a curva de embebição das sementes, no período de 0 a 26 horas. As sementes dos dois lotes apresentaram padrão diferente de embebição, conforme pode ser observado pelas equações ajustadas para cada lote. As sementes de alto vigor apresentam menor velocidade de absorção de água no início do processo, até as primeiras 2 horas as sementes de alto vigor apresentaram teor de água de 8%, enquanto as de baixo vigor apresentaram teor de 9% de água. A partir das 4 horas e até as 24 horas de embebição, observou-se maior teor de água nas sementes de alto vigor em relação às sementes do lote de baixo vigor. Já, no período de 24 a 26 horas de embebição, o teor de água das sementes do lote de baixo vigor continuou aumentando, diferentemente do que ocorreu com o lote de alto vigor quando houve estabilização. Este comportamento está de acordo com o descrito por Marcos-Filho (2015), em que as sementes em estágio mais avançado de deterioração, geralmente apresentam embebição inicial mais rápida, porém, no decorrer do processo, as sementes com potencial fisiológico superior exigem maiores quantidades de água para a continuidade do metabolismo. Ainda, caso o tegumento esteja rompido ou apresente pequenas fissuras, poderá acelerar ainda mais a dinâmica de absorção de água pelas sementes de menor vigor. Essa rápida absorção inicial de água pode ter efeitos prejudiciais para as sementes como a redução da porcentagem e velocidade de emergência. Esses efeitos foram evidenciados pelos testes apresentados na Tabela 1.

Figura 9. Curva de embebição de sementes de soja, cultivar M5917 IPRO, dos lotes de alto e baixo vigor. As linhas pontilhadas verticais correspondem aos tempos em que foram realizadas as avaliações por μ -XRF.

De acordo com Bewley e Black (1978), o processo de absorção de água pelas sementes ocorre seguindo um padrão trifásico. A primeira fase, de maneira geral, apresenta duração de oito a dezesseis horas, a segunda possui duração variável conforme a espécie, sendo que para soja este período pode durar até oito a dez vezes mais que a primeira fase, e o início da terceira fase é identificada pela protrusão da raiz primária. Conforme pode ser observado nas linhas pontilhadas indicadas na curva de embebição dos dois lotes, foram realizadas avaliações da absorção de zinco na primeira e na segunda fase do processo de absorção de água pelas sementes.

A verificação da curva de embebição para cada lote foi realizada visando auxiliar na elucidação de possíveis diferenças na dinâmica de absorção e distribuição do Zn aplicado nas sementes. Na Figura 10 estão apresentados os resultados das avaliações das intensidades de zinco por μ -XRF durante o processo de embebição. Observa-se que mesmo sem tratamento com zinco (dose: 0 g.kg^{-1}), as sementes de soja de alto e de baixo vigor apresentaram pequenas intensidades deste elemento, independentemente do tempo de embebição (aproximadamente 10

cps), tanto no tegumento quanto no cotilédone, conforme pode ser evidenciado nas análises de *linescan*, as quais compreendem a região do tegumento oposta ao hilo, tecido cotiledonar e do hilo. Por outro lado, nas sementes tratadas, as maiores intensidades de zinco foram observadas no tegumento e na região do hilo, corroborando os resultados obtidos por Montanha et al. (2020). Observa-se que para as doses de 2 e 4 g.kg⁻¹ a intensidade de Zn na região do hilo foi cerca de 100 vezes superior à da região central do cotilédone, enquanto para a dose de 8 g.kg⁻¹ esse valor foi quase 1000 vezes. De maneira geral, conforme aumentou-se a dose e o tempo de embebição, maiores foram as intensidades de zinco no tegumento, cotilédone e hilo (Figura 10).

Figura 10. Intensidade de zinco (cps) medida por μ -XRF (*linescan*), ao longo do processo de embebição, nas regiões do tegumento oposta ao hilo, cotilédone e hilo em sementes de soja tratadas com doses de zinco, provenientes de lotes de alto e baixo vigor.

Os cotilédones possuem nervuras pelas quais os metabólitos são canalizados em direção ao nó cotiledonar (região de conexão dos dois cotilédones ao eixo embrionário) através da

região vascular. Segundo França-Neto e Krzyzanowski (2018), a região vascular situa-se no terço superior dos cotilédones, e é através dessa região que passam os vasos que conectam o eixo embrionário aos cotilédones (Figura 11). Portanto, a região vascular é de suma importância para o transporte de materiais de reserva dos cotilédones ao eixo embrionário em desenvolvimento, nas fases iniciais da germinação.

Esquema adaptado de França-Neto e Krzyzanowski (2018)

Figura 11. Estrutura de uma semente de soja após embebição com o tegumento removido: (A) Esquema com indicação do cotilédone, eixo embrionário e localização da região vascular; (B) Imagem gerada pela análise de μ -XRF com a indicação da região vascular e as partes que compõem o eixo embrionário.

Pesquisa realizada por McDonald et al. (1988a) com sementes de soja revelou que no início da embebição, a água penetra principalmente pela extremidade oposta ao hilo, porém, com o decorrer da embebição, a maior quantidade de água entra pela região mais próxima ao hilo e à micrópila. Os resultados da análise μ -XRF para sementes tratadas com a dose de 2 g.kg^{-1} revelaram que não ocorreram aumentos na intensidade de Zn com o aumento do tempo de embebição nas regiões do tegumento oposta ao hilo, cotilédone e hilo. Porém, para os tratamentos com as doses de 4 e 8 g.kg^{-1} houve variação na intensidade de Zn. Para a dose de 4 g.kg^{-1} a intensidade de Zn permaneceu estável nas regiões do tegumento e hilo com o aumento do tempo de embebição (8, 16 e 24 h), porém aumentou na região do cotilédone. Resultado semelhante foi observado para a dose de 8 g.kg^{-1} , com aumento da intensidade de Zn na região do cotilédone para o tempo de embebição de 24 horas quando comparado com os tempos de 8 e 16 horas. Na Figura 10, com exceção do tratamento testemunha e da avaliação após 24 horas de embebição em sementes tratadas com a dose de 8 g.kg^{-1} , observa-se um padrão decrescente

de intensidade de Zn à medida que os pontos avaliados foram direcionados para a região central do cotilédone, indicando a mobilização do Zn da região mais externa para a mais interna do cotilédone.

Os resultados de intensidade de absorção de Zn pelas sementes observados nesta pesquisa podem ser explicados tendo como base o processo de hidratação de sementes mencionado por Marcos-Filho (2015). O autor descreve que o processo de hidratação ocorre de maneira gradual, com o umedecimento inicial dos tecidos mais próximos da superfície e o estabelecimento de uma “frente de hidratação”, à medida que a água se desloca para o interior da semente. Assim, como a água atua como solvente para o zinco, os resultados obtidos nesta pesquisa indicam que a dinâmica de absorção do zinco ocorreu conforme a dinâmica de absorção da água. Isso pode ser constatado pela variabilidade da intensidade de Zn (pontos ao longo da análise *linescan*), comparando-se o tempo de embebição de 8 horas com os tempos de 16 e 24 horas, dentro de cada dose de Zn (Figura 10). Observa-se que com o aumento do tempo de embebição ocorreu aumento da variabilidade da intensidade do Zn (pontos de alta e de baixa). Isso evidencia que o Zn aplicado via tratamento de sementes foi mobilizado para o interior do cotilédone juntamente com a água e essa maior variabilidade na intensidade do Zn com o aumento do tempo de embebição pode estar associada com a mobilização do Zn para a região vascular do cotilédone, comentada anteriormente.

Quanto à dinâmica de absorção de Zn na região cotiledonar entre as sementes dos lotes de alto e de baixo vigor, não foram observadas diferenças nos padrões de absorção, independentemente da dose utilizada no tratamento das sementes (Figura 10).

Quanto às análises realizadas no eixo embrionário, observa-se que no tratamento testemunha, independentemente do tempo de embebição, as intensidades de zinco foram semelhantes às encontradas nas regiões do cotilédone, tegumento e hilo, ou seja, valores próximos de 10 cps (Figura 12). Segundo Marcos-Filho (2015), o movimento de água é mais rápido nos tecidos embrionários, pois esses tecidos captam água de maneira mais uniforme e contínua, devido ao processo de germinação envolver tanto a divisão como o alongamento celular, exigindo assim maior volume de água. Vale ressaltar que em espécies da família Fabaceae, como a soja, o cotilédone é uma estrutura do embrião da semente, e dessa forma é um tecido vivo que dispõe de todo aparato enzimático necessário para promover a digestão e o transporte de suas próprias substâncias de reserva, com o objetivo de nutrir o crescimento do eixo embrionário na germinação (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). Porém, nos tratamentos com aplicação das doses de Zn foram observadas maiores intensidades deste elemento na região do eixo embrionário, quando comparado à região cotiledonar.

Com relação aos níveis de vigor das sementes foram observadas diferenças nas intensidades de zinco nos tratamentos de 2 g.kg^{-1} e 4 g.kg^{-1} com as medições realizadas após 8 e 16 horas de embebição (Figura 12). Observa-se que as intensidades de Zn no eixo embrionário das sementes do lote de alto vigor foram superiores às das sementes do lote de baixo vigor. Essas diferenças apresentadas entre os níveis de vigor, podem ser associadas às diferenças no metabolismo das sementes, e por consequência, na capacidade de absorção de água pelo eixo embrionário. Sabe-se que sementes provenientes de lotes com menor potencial fisiológico necessitam de um tempo maior para que o reparo de danos acumulados durante o processo de deterioração seja finalizado. Dessa forma, a permeabilidade das membranas de lotes menos vigorosos tem menor eficiência quando comparada à das sementes provenientes de lotes com maior vigor, pois a integridade dos tecidos dessas sementes, especialmente do tegumento, está mais afetada. Ao avaliar a absorção de água pelo eixo embrionário de sementes de soja de alto e baixo vigor, McDonald et al. (1988b) observaram que ao hidratar as sementes em condições de alta umidade relativa (germinador), houve diferença acentuada na capacidade de absorção de água pelo eixo embrionário de sementes de baixo vigor, concluindo que esse comportamento pode ser atribuído às diferenças no potencial mátrico das sementes. Esta diferença foi observada na curva de embebição traçada para cada lote (Figura 9).

Figura 12. Intensidade de zinco (cps) medida por μ -XRF em quatro regiões do eixo do embrião (P1: meristema radicular; P2: hipocótilo próximo à radícula; P3: hipocótilo próximo à plúmula; P4: plúmula), ao longo do processo de embebição de sementes de soja tratadas com doses crescentes de zinco, provenientes de lotes de alto e baixo vigor.

A partir dos dados de intensidade de Zn determinados nas quatro regiões do eixo embrionário das sementes foram calculados os valores médios para cada lote e dose de Zn, dentro de cada tempo de embebição, cujos resultados estão apresentados na Tabela 4. Observa-se que não ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$) da intensidade de Zn entre os lotes de sementes em nenhum dos tempos de avaliação para o tratamento testemunha. Porém, para o tratamento de 2 g.kg^{-1} , após 16 horas de embebição, ocorreram diferenças significativas entre os lotes, onde o lote de alto vigor apresentou intensidades de zinco significativamente superior ao lote de baixo vigor. Comportamento semelhante ocorreu para a dose de 4 g.kg^{-1} após 8 e 16 horas de embebição, com intensidades de Zn no eixo embrionário das sementes do lote de alto vigor cerca de três vezes superiores às das sementes do lote de baixo vigor. Esses resultados indicam que a mobilização do Zn para o eixo embrionário é influenciada pelo vigor da semente, principalmente no período de 0 a 16 horas de embebição, e isso pode estar diretamente relacionado com as diferenças no metabolismo das sementes.

A maior concentração de Zn no eixo embrionário das sementes do lote de alto vigor no início do processo de embebição pode ser um indicativo da maior atividade enzimática. Segundo Faquin (2005), o zinco tem como principal função no metabolismo, ser um componente e ativador enzimático. Além disso, o zinco é o segundo metal de transição mais abundante em organismos, depois do ferro (Fe), é o único metal encontrado em todas as classes enzimáticas (oxidoredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases, ligases), e também, locais de ligação de zinco ocorrem em uma ampla gama de proteínas, lipídios de membranas e moléculas de DNA/RNA (BROADLEY et al., 2007).

Com relação à dose de 8 g.kg^{-1} , conforme pode ser observado na Figura 12 e na Tabela 4, os resultados de intensidade de Zn foram pouco consistentes, com valores semelhantes entre os lotes no período de 8 horas, superioridade do lote de baixo vigor no período de 16 horas e superioridade do lote de alto vigor no período de 24 horas de embebição. Esses resultados evidenciam o possível efeito nocivo da aplicação de dose excessiva de Zn ao metabolismo das sementes, conforme foi constatado pela redução do potencial fisiológico (Tabela 2).

Ressalta-se, que a capacidade de absorção de água de cada parte da semente também está relacionada com a diferença da composição química de cada estrutura. Os trabalhos desenvolvidos por McDonald et al. (1988ab), sugerem que o eixo embrionário da soja tem maior capacidade de absorção e retenção de água do que as outras estruturas da semente (cotilédone e tegumento), sendo essa capacidade devido a diferenças na composição química de cada estrutura. Dessa forma, além da capacidade de absorção de água pelo eixo embrionário, a diferença na dinâmica de absorção do Zn pelo eixo embrionário das sementes dos lotes de

alto e baixo vigor pode estar associada à velocidade das reações bioquímicas e à velocidade de reorganização das membranas celulares. Segundo Marcos-Filho (2015), a maioria das reações bioquímicas nas sementes são intensificadas com o início da embebição para a germinação, utilizando para isso energia química. O mitocôndrio é o maior produtor da forma mais comum de energia química, o trifosfato de adenosina (ATP), e assim é uma das organelas mais utilizadas para caracterizar diferenças no vigor da semente. Em sementes mais vigorosas, os mitocôndrios mantêm-se organizados à medida que o processo de germinação evolui, já nas sementes não viáveis, as membranas internas permanecem completamente desestruturadas.

Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa é possível dizer que, tanto o zinco existente naturalmente nas sementes, sejam elas de alto ou baixo vigor, quanto o zinco aplicado via tratamento de sementes, tem a região do eixo embrionário como destino final da mobilização de reservas, ou seja, o elemento é translocado para a região de maior metabolismo da semente. Assim, as manifestações metabólicas ou bioquímicas podem elucidar o comportamento dos lotes quanto à dinâmica de absorção do zinco, devido a sua relação com a deterioração das sementes. Ferguson et al. (1990) verificaram que nos mitocôndrios das células do eixo embrionário de sementes de soja envelhecidas, a captação de oxigênio pode ser 10 a 40% superior à verificada para sementes mais vigorosas, mas a produção de ATP por volume de oxigênio consumido por estas sementes é mais de duas vezes superior à das envelhecidas. Os autores também citam diversos relatos onde foram destacados decréscimos tanto do número como da eficiência dos mitocôndrios de eixos embrionários, durante a germinação de sementes de soja com baixo vigor.

Ainda, segundo Castro e Hilhorst (2000), Obroucheva (2010) e Bewley et al. (2013) dentre os eventos que ocorrem nas duas primeiras fases da embebição estão a síntese de mRNA, início da transcrição de mRNA, ativação da síntese de proteínas, reparo de DNA, a transcrição e tradução “de novo” mRNA, síntese “de novo” de enzimas. Assim, o zinco pode exercer função essencial para que esses eventos aconteçam.

Tabela 4 - Intensidade do zinco (cps) determinada por μ -XRF no eixo embrionário de sementes de soja originadas de lotes com dois níveis de vigor, alto vigor (AV) e baixo vigor (BV), tratadas com diferentes doses de zinco, após 8, 16 e 24 horas de embebição.

Dose (g.kg ⁻¹)	Tempo de embebição (horas)											
	8				16				24			
	AV		BV		AV		BV		AV		BV	
0	10,10	Ad ¹	9,87	Ad	9,63	Ad	10,51	Ac	8,25	Ac	9,20	Ac
2	37,74	Ac	27,19	Ac	61,11	Ab	36,00	Bb	38,48	Ab	71,56	Ab
4	147,20	Aa	49,74	Bb	155,30	Aa	48,10	Bab	78,35	Aa	75,08	Ab
8	125,90	Ab	122,80	Aa	31,48	Bc	64,32	Aa	117,20	Ba	167,40	Aa
CV (%)	9,53				11,61				7,96			

¹ Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha e dentro de cada tempo de embebição e médias seguidas de letras minúsculas diferentes dentro de cada coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nesta pesquisa também foi investigada a mobilização do zinco na terceira fase da embebição, ou seja, durante o crescimento e diferenciação dos tecidos do eixo embrionário. Na Tabela 5 encontram-se os resultados de intensidade de Zn medidos por μ -XRF nas regiões da raiz primária, hipocótilo e plúmula de sementes de soja dos lotes de alto e baixo vigor, após 48, 72 e 96 horas de germinação. Observa-se que o efeito da aplicação das doses de zinco ocorreu de maneira semelhante para as diferentes regiões das plântulas em ambos os lotes de sementes, ou seja, aumento da intensidade de Zn com o aumento da dose aplicada. No tratamento testemunha, a intensidade de Zn no tegumento das sementes do lote de alto vigor foi superior à das sementes do lote de baixo vigor, porém essas diferenças não ocorreram quando as sementes foram tratadas com as doses de 2 e 8 g.kg⁻¹.

Quanto às avaliações realizadas no cotilédone das plântulas após 48, 72 e 96 horas de germinação, não ocorreram diferenças significativas entre os lotes quando foram aplicadas as doses de 2 e 8 g.kg⁻¹. Resultados semelhantes foram observados quando as avaliações foram realizadas na região do hipocótilo, ocorrendo diferenças significativas apenas em plântulas com 48 horas de germinação para as doses de 0 e 2 g.kg⁻¹, com maiores valores de intensidade de Zn para o lote de baixo vigor. Por outro lado, quando as avaliações foram realizadas nas regiões da raiz primária e da plúmula, as diferenças entre os lotes de sementes foram mais frequentes. Observa-se no tratamento testemunha (0 g.kg⁻¹), que a intensidade de Zn na raiz primária com 48 horas de germinação foi semelhante entre plântulas originadas de sementes de alto e de baixo vigor. Porém, com o avanço do tempo de germinação (72 e 96 horas) a intensidade de Zn na raiz primária das plântulas do lote de baixo vigor diminuiu e foi significativamente menor que a intensidade observada para o lote de alto vigor. Já, quando as sementes foram tratadas com a dose de 2 g.kg⁻¹, os resultados revelaram maior intensidade de Zn na raiz primária de plântulas originadas do lote de sementes de baixo vigor, nos três tempos de germinação. Resultados

semelhantes também foram observados quando as avaliações ocorreram na região da plúmula, com valores de intensidade de Zn superiores para plântulas originadas de sementes de baixo vigor. Com relação à dose de 8 g.kg⁻¹, com exceção da maior intensidade de Zn na região da plúmula e raiz primária no tempo de 72 horas das plântulas do lote de baixo vigor, todos os demais tratamentos não revelaram diferenças entre os lotes de sementes.

Tabela 5 - Intensidade do zinco (cps) determinada por μ -XRF em diferentes regiões de plântulas de soja originadas de sementes com dois níveis de vigor, alto vigor (AV e baixo vigor (BV), tratadas com diferentes doses de zinco, após 48, 72 e 96 horas de germinação.

Raiz primária Dose (g.kg ⁻¹)	Tempo de germinação (horas)					
	48		72		96	
	AV	BV	AV	BV	AV	BV
0	0,0504 Ab ¹	0,0552 Ab	0,0522 Ab	0,0334 Bb	0,0664 Ab	0,0409 Bb
2	0,0795 Bb	0,2249 Aa	0,1131 Ba	0,2369 Aa	0,0512 Bb	0,1525 Aa
8	0,5805 Aa	0,5184 Aa	0,1900 Ba	2,2060 Aa	0,1858 Aa	0,1015 Aa
CV (%)	26,87		20,33		22,34	
Hipocótilo Dose (g.kg ⁻¹)	48		72		96	
	AV	BV	AV	BV	AV	BV
0	0,0264 Bc	0,0404 Ab	0,0269 Ab	0,0244 Ac	0,0185 Ab	0,0218 Ac
2	0,0525 Bb	0,1386 Aa	0,0628 Aa	0,0554 Ab	0,0427 Aa	0,0523 Ab
8	0,1683 Aa	0,2035 Aa	0,0911 Aa	0,1426 Aa	0,0696 Aa	0,1098 Aa
CV (%)	14,03		12,67		9,66	
Plúmula Dose (g.kg ⁻¹)	48		72		96	
	AV	BV	AV	BV	AV	BV
0	0,0356 Ab	0,0371 Ab	0,0334 Ab	0,0328 Ab	0,0331 Ab	0,0325 Ab
2	0,1212 Aa	0,1804 Aa	0,0661 Bab	0,1864 Aa	0,0761 Ab	0,1105 Aa
8	0,2015 Aa	0,1226 Aa	0,1099 Ba	0,1734 Aa	0,2155 Aa	0,1841 Aa
CV (%)	19,01		17,33		18,96	
Cotilédone Dose (g.kg ⁻¹)	48		72		96	
	AV	BV	AV	BV	AV	BV
0	0,0429 Ab	0,0268 Bb	0,0461 Ab	0,0294 Ab	0,0341 Ab	0,0322 Ab
2	0,1262 Aa	0,1045 Aa	0,1217 Aa	0,1558 Aa	0,1121 Aab	0,1265 Aa
8	0,1909 Aa	0,1653 Aa	0,1626 Aa	0,1787 Aa	0,2349 Aa	0,2395 Aa
CV (%)	14,51		14,32		20,07	
Tegumento Dose (g.kg ⁻¹)	48		72		96	
	AV	BV	AV	BV	AV	BV
0	0,0541 Ab	0,0236 Bb	0,0541 Ab	0,0255 Bc	0,0461 Ab	0,0249 Bc
2	3,5734 Ab	2,3880 Aa	5,8128 Ab	2,9982 Ab	5,4626 Ab	5,1402 Ab
8	12,527 Aa	10,075 Aa	34,648 Aa	25,269 Aa	14,171 Aa	24,238 Aa
CV (%)	25,94		27,20		21,49	

¹ Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha e dentro de cada tempo de germinação e médias seguidas de letras minúsculas diferentes dentro de cada coluna para cada região da plântula diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De maneira geral, após o tratamento com zinco, as avaliações em plântulas a partir de 48 horas de germinação indicaram que o lote de baixo vigor apresentou maiores intensidades de Zn nas regiões de maior atividade metabólica (raiz primária e plúmula). Esses resultados podem estar relacionados ao fato de que a velocidade das reações bioquímicas ocorre de forma distinta entre os dois lotes. Uma hipótese que justifica esse comportamento é que o lote de baixo

vigor demandaria mais energia para a realização das reações bioquímicas nesta fase da germinação do que o lote de alto vigor, e por essa razão possui maior demanda pelo Zn fornecido através do tratamento. Por outro lado, nas sementes de alto vigor o Zn fornecido pelo tratamento já seria em uma quantidade além da necessária para o funcionamento do metabolismo das sementes rumo à germinação. Henning et al. (2010) estudaram o comportamento da mobilização de reservas em sementes de soja e concluíram que sementes de soja de alto vigor possuem maiores teores de proteínas solúveis, amido e açúcares solúveis, e maior capacidade de mobilização de reservas na germinação.

Outra hipótese para explicar os resultados obtidos nesta pesquisa com relação às maiores intensidades de Zn encontradas em plântulas do lote de baixo vigor após o tratamento com as doses de 2 e 8 g.kg⁻¹ seria a maior concentração do elemento por unidade de área, tendo em vista que as plântulas originadas do lote de baixo vigor apresentaram tamanho menor do que as plântulas originadas do lote de alto vigor, assim, a intensidade de Zn no lote de baixo vigor foi maior devido à maior densidade dos tecidos.

Com relação aos efeitos das doses de zinco aplicadas via tratamento de sementes sobre o desenvolvimento das plantas (estádio V2), não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) em nenhuma das avaliações realizadas nas plantas do lote de alto vigor (Tabela 6). Resultados semelhantes ocorreram para o lote de baixo vigor, com exceção da variável massa de matéria seca de raiz (MMS_R), que apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), evidenciando efeito negativo da dose 8 g.kg⁻¹ no desenvolvimento do sistema radicular da planta. Ressalta-se, entretanto, que não houve diferenças significativas entre a aplicação das doses de 2 e 4 g.kg⁻¹ e o tratamento testemunha. Milléo e Cristófoli (2015), também verificaram o aumento da massa seca de raízes de plantas de soja que foram submetidas ao tratamento de sementes com acetato de zinco amoniacal. Ribeiro e dos Santos (1996) revisaram estudos sobre o aproveitamento do zinco aplicado na semente na nutrição das plantas em diferentes culturas de grãos e concluíram que o tratamento de sementes com zinco proporciona aumento no teor deste nutriente, que é translocado para a plântula durante a germinação. Essa plântula bem nutrida em zinco apresenta maior desenvolvimento inicial, principalmente em condições adversas e em substratos com baixo teor do nutriente.

Tabela 6 - Altura de planta (AP), área foliar (AF), volume de raiz (VR), massa de matéria seca de parte aérea (MMS_PA), e massa de matéria seca de raiz (MMS_R) de planta de soja no estágio fenológico V2, originadas de sementes de lotes de alto e baixo vigor (L1 e L2), tratadas com diferentes doses de zinco.

Dose de Zn	AP	AF	VR	MMS_R	MMS_PA
g.kg ⁻¹	cm.pl ⁻¹	cm ² .pl ⁻¹	cm ³ .pl ⁻¹	----- g.pl ⁻¹ -----	
L1: alto vigor					
0	21,4 a ¹	57,84 a	0,425 a	0,032 a	0,118 a
2	20,5 a	61,92 a	0,469 a	0,040 a	0,124 a
4	21,6 a	69,91 a	0,480 a	0,047 a	0,134 a
8	20,2 a	59,11 a	0,468 a	0,039 a	0,124 a
CV (%)	5,32	15,85	14,41	22,75	9,42
L2: baixo vigor					
0	19,8 a	60,06 a	0,513 a	0,038 ab	0,128 a
2	21,2 a	53,70 a	0,377 a	0,036 ab	0,126 a
4	20,4 a	59,94 a	0,562 a	0,044 a	0,134 a
8	19,9 a	56,69 a	0,474 a	0,033 b	0,115 a
CV (%)	8,99	12,84	25,18	11,80	11,45

¹ Médias seguidas de letras diferentes na coluna dentro de cada lote diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A análise química da areia utilizada nesta pesquisa apresentou concentração de zinco de 0,7 mg.dm⁻³. A amplitude de valores considerada adequada para disponibilidade de zinco no solo é de 1,0 a 1,6 mg.dm⁻³ (RESENDE, 2004). Fageria (2000) ao estudar os níveis adequados e tóxicos de zinco para as culturas do arroz, feijão, milho, soja e trigo concluiu que as doses de zinco que propiciaram 90% da produção máxima de matéria seca da parte aérea em solos de cerrado variaram entre 1 a 10 mg.dm⁻³. Logo, a disponibilidade de zinco na areia utilizada como substrato estava um pouco abaixo do valor adequado, porém, o substrato foi escolhido de forma intencional, a fim de evidenciar a absorção do tratamento aplicado via sementes.

A fim de verificar a mobilidade do zinco em cada parte da planta foram realizadas análises de espectroscopia por fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDXRF) na raiz e parte aérea de plantas de soja no estágio fenológico V2, cujos resultados estão apresentados na Tabela 7. Observa-se que não ocorreram diferenças significativa ($p < 0,05$) nas concentrações de zinco entre os dois lotes de sementes, tanto para parte aérea como para raiz. Por outro lado, ocorreram diferenças significativas da aplicação das doses de zinco. Tanto na parte área quanto na raiz das plantas ocorreu aumento da concentração de Zn com o aumento da dose aplicada via tratamento

de sementes, porém, as maiores concentrações deste elemento ocorreram na raiz. Esse acúmulo de zinco em maiores concentrações nas raízes pode ser devido à baixa mobilidade na planta, o que faz com que a velocidade de absorção desse elemento pelas raízes seja maior do que a velocidade de translocação para a parte aérea, causando um acúmulo do elemento nesta região. A soja é classificada como de média resposta ao zinco (MALAVOLTA e KLIEMANN, 1985) e essa resposta está associada ao fato de o zinco ser um micronutriente com pouca mobilidade nas plantas (FAQUIN, 2005). Além disso, conforme a marcha de absorção de nutrientes proposta por Oliveira Junior et al. (2016), o pico de absorção de zinco pela soja se dá no estágio R5, e até que a planta atinja essa fase de desenvolvimento, o acúmulo de zinco pela planta é crescente, com translocação do zinco das raízes para a parte aérea e posteriormente para as sementes que serão formadas. Assim, os resultados obtidos nesta pesquisa sobre a maior concentração de zinco nas raízes podem estar associados ao estágio fenológico em que as avaliações foram realizadas.

Tabela 7 – Concentrações de zinco na parte aérea e na raiz das plantas de soja no estágio fenológico V2, provenientes de dois lotes de sementes, tratadas com diferentes doses de zinco.

	Parte Aérea	Raiz
Lote	mg.kg ⁻¹	
Alto vigor	49,43 a ¹	86,39 a
Baixo vigor	50,36 a	84,71 a
Dose de zinco	Parte Aérea	Raiz
g.kg ⁻¹	mg.kg ⁻¹	
0	40,11 c	59,60 b
2	47,03 b	74,23 b
4	49,60 ab	93,11 a
8	63,79 a	115,1 a
CV (%)	7,84	19,13

¹ Médias seguidas de letras diferentes na coluna dentro de cada lote e de cada dose indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os resultados dos testes de germinação e vigor realizados após o tratamento das sementes com doses de Zn evidenciaram efeito fitotóxico da dose 8 g.kg^{-1} , sendo este efeito mais acentuado em sementes do lote de baixo vigor. O tratamento das sementes de ambos os lotes com a dose recomendada e o dobro da dose (2 e 4 gramas de Zn por quilograma de sementes) não causou prejuízos ao potencial fisiológico das sementes.

As avaliações de μ -XRF realizadas na região do cotilédone de sementes embebidas durante 8, 16 e 24 horas não evidenciaram diferenças nos padrões de absorção de Zn entre sementes do lote de alto e de baixo vigor, independentemente da dose utilizada no tratamento das sementes. De maneira geral, o efeito da aplicação das doses de zinco foi semelhante para as diferentes regiões das sementes (tegumento oposta ao hilo, cotilédone e hilo) de ambos os lotes, ou seja, aumento da intensidade de Zn com o aumento da dose aplicada. Por outro lado, quando as avaliações foram realizadas no eixo embrionário, ocorreram diferenças entre sementes de alto e baixo vigor quanto à dinâmica de absorção e distribuição do zinco. As intensidades de Zn no eixo embrionário das sementes do lote de alto vigor, tratadas com a dose recomendada e o dobro da dose, foram superiores às das sementes do lote de baixo vigor até 16 horas de embebição, porém, esses resultados foram inversos após 24 horas de embebição, portanto, as intensidades de Zn no eixo embrionário das sementes do lote de baixo vigor foram superiores às das sementes do lote de alto vigor.

Quanto às avaliações de μ -XRF realizadas em plântulas com diferentes períodos de desenvolvimento (48, 72 e 96 horas de germinação) foram observadas diferenças nos valores de intensidade de Zn entre plântulas originadas de sementes de alto e baixo vigor, mesmo quando este nutriente não foi aplicado via tratamento de sementes. Com o avanço do tempo de germinação (72 e 96 horas) a intensidade de Zn na raiz primária das plântulas originadas de sementes do lote de baixo vigor, sem tratamento com Zn, diminuiu e foi significativamente inferior aos resultados observados para o lote de alto vigor. Porém, com o tratamento das sementes utilizando a dose 2 g.kg^{-1} , as plântulas do lote de baixo vigor apresentaram maiores intensidades de Zn nas regiões de maior atividade metabólica (raiz primária e plúmula).

O tratamento das sementes com as doses de Zn não apresentou efeito sobre a altura de planta, área foliar, volume de raiz e massa de matéria seca de parte aérea e de raiz realizadas no estágio fenológico V2. Porém, houve aumento da concentração de Zn na parte aérea e na raiz com o aumento da dose aplicada.

A técnica de microanálise por fluorescência de raios X se mostrou eficiente na avaliação da dinâmica de absorção e distribuição de Zn durante a germinação de sementes de soja, sendo promissora para ser explorada na área de tecnologia de sementes, principalmente em estudos relacionados a fisiologia de sementes.

Vale ressaltar que a genética é um fator importante a ser considerado no estudo de absorção e translocação de nutrientes. Assim, investigações mais profundas com a utilização de outros cultivares de soja são importantes para atribuir conclusões a nível de espécie.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que:

- 1) Nas avaliações realizadas na região cotiledonar durante a germinação (embebição até 24 h e desenvolvimento da plântula até 96 h), embora ocorra aumento da intensidade de Zn com o aumento da dose aplicada via tratamento de sementes, não há diferenças quanto à dinâmica de absorção e distribuição do Zn entre sementes de soja de alto e baixo vigor.
- 2) Nas avaliações realizadas no eixo embrionário durante a embebição, há diferenças quanto à dinâmica de absorção e distribuição do Zn entre sementes de alto e baixo vigor. Sementes de alto vigor apresentam maiores intensidades de zinco no início do processo embebição, enquanto sementes de baixo vigor apresentam maiores intensidades de Zn no final desse processo.
- 3) Há diferenças quanto à intensidade de Zn em avaliações realizadas na região da raiz primária e da plúmula de plântulas originadas de sementes de alto e baixo vigor.
- 4) Embora ocorra aumento na concentração de Zn na raiz e na parte aérea das plantas com o aumento das doses de Zn aplicadas via tratamento de sementes, não há diferenças no desempenho das plantas até o estágio fenológico V2.

REFERÊNCIAS

ABREU C. A.; LOPES A. S.; SANTOS, G. **Micronutrientes**. In: NOVAIS RF; ALVAREZ VVH; BARROS NF; FONTES RLF; CANTARUTTI RB; NEVES JCL (eds). Fertilidade do Solo. Viçosa: SBCS/ UFV. p. 645-736, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÓLEOS VEGETAIS. **Relatório de Exportações – Complexo Soja e Milho**. Disponível em: <<http://abiove.org.br/wp-content/uploads/2019/05/Relatório-de-Exportações-2019.07.pdf>>. Acesso em: Março, 2021.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS – **Seed vigor testing handbook**. Springfield: AOSA, 2009. 341 p.

BAUDET, L.; PESKE, S. T. A logística do tratamento de sementes. Seed News, Londrina, v. 10, n. 1, p. 20-23, 2006. Disponível em: <<https://seednews.com.br/artigos/658-a-logistica-do-tratamento-de-sementes-edicao-janeiro-2006>>. Acesso em: Julho, 2021.

BEZERRA, A. R. G.; SEDIYAMA, T.; BORÉM, A.; SOARES, M. M. **Importância econômica**. In: Soja, do plantio à colheita. Editora UFV, p. 9-26, Viçosa, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes. Secretaria de defesa agropecuária**. Brasília, 2009. 399 p.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination**. New York, Springer-Verlag, v. 1, p. 3060. 1978.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3.ed. New York: Springer. 2013. 392 p.

BROADLEY, M. R.; WHITE, P. J.; HAMMOND, J. P.; ZELKO, I.; LUX, A. Tansley review: Zinc in Plants. **New Phytologist**, v. 173, p. 677-702, 2007.

BROUWER, P.; **Theory of XRF: Getting Acquainted with the Principles**, Almelo: PANalytical B.V, Netherlands, 2010.

BORKERT, C. M. **Micronutrientes na planta**. In: BÜLL, L.T.; ROSOLEM, C.A. Interpretação de análise química de solo e planta para fins de adubação. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, p. 309-329, 1989.

CÂMARA, G. M. S; **Preparo de solo e plantio**. In: Soja, do plantio à colheita. Editora UFV, p.66-109, Viçosa, 2015.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S; Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 37, p. 1629-1638, 2002.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

De CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M. Dormancy, germination and the cell cycle in developing and imbibing tomato seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 105-136, 2000.

CHENG, T. The effect of seed treatment with microelements upon the germination and early growth of wheat. **Scientia Sinica**, v. 44, p. 129-135, 1985.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL – **Panorama do Agro**. Disponível em <<https://www.cnabrazil.org.br/cna/panorama-do-agro>>. Acesso em: fevereiro, 2021.

COSTA, J. A.; MARCHEZAN, E.; **Características dos estádios de desenvolvimento da soja**. Fundação Cargill, Campinas, 1982. 30 p.

CUSTÓDIO, C. C.; MARCOS-FILHO, J. Potassium leachate test for the evaluation of soybean seed physiological quality. **Seed Science and Technology**, v. 25, n. 3, p. 549-564, 1997.

DEL BEM JUNIOR, L.; **Avaliação qualitativa de métodos de tratamento de sementes de soja**. 2017. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Julho de Mesquita Filho, Botucatu, [s.n.], 68 p., 2017. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/152644>>

DURAN, N. M.; SAVASSA, S. M.; LIMA, R. G.; ALMEIDA, E.; LINHARES, F.; GESTEL, C. A. M.; CARVALHO, H. W. P. X-ray Spectroscopy Uncovering the Effects of Cu Based Nanoparticle Concentration and Structure on *Phaseolus vulgaris* Germination and Seedling Development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 7874-7884, 2017.

DUTRA, A. S.; VIEIRA, R. D. Envelhecimento acelerado como teste de vigor para sementes de milho e soja. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p. 715-721, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Soja em números (safra 2019/2020)**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos> Acesso em: 18 março, 2021.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. 2 ed. Sunderland. Sinauer Associates, 2004. 380 p.

FAGERIA, N. K. Níveis adequados e tóxicos de zinco na produção de arroz, feijão, milho, soja e trigo em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 3, p. 390-395, 2000.

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas** - Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” (Especialização) a Distância: Solos e Meio Ambiente, FAEPE, Lavras, p. 186, 2005.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. Stages of Soybean Development. **Special report 78, Iowa State University**, v. 80, p. 11, 1977.

FERGUSON, J. M.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B.; Changes during early soybean seed and axes deterioration: I. Seed quality and mitochondrial respiration. *Crop Science*, v. 30, n. 1, p. 175-179, 1990.

FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A.; KRZYZANOWSKY, F. C.; PEREIRA, O. A. P.; LORINI, I.; PANOFF, B.; BRZEZINSKI, C. R.; BERGONSI, J. S. Efeito do tratamento de sementes de soja com micronutrientes e bioestimulantes sobre o desenvolvimento de plântulas. **Resumos da XXXII Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil**, n. 107, p. 345-347, 2011. Disponível em:

<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/62513/1/406-s110.pdf>>

FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYZANOWSKY, F. C. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, p. 108, 2018. (Documentos, n. 406). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1098452/metodologia-do-teste-de-tetrazolio-em-sementes-de-soja>>

FUKUDA, N.; HOKURA, A.; KITAJIMA, N.; TERADA, Y.; SAITO, H.; ABE, T.; NAKAI, I. Micro X-ray fluorescence imaging and micro-X-ray absorption spectroscopy of 54 *elleri* hyper-accumulating plant, *Arabidopsis 54elleri ssp. Gemmifera*, using high-energy synchrotron radioation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.23, p. 1068-1075, 2008.

GALRÃO, E. Z. **Micronutrientes**. In: SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. (Ed.). *Cerrado: correção do solo e adubação*. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 185-226, 2002.

GOMES, F. M. H.; MACHADO, A. B.; RODRIGUES, S. E.; MONTANHA, S. G.; ROSSI, L. M.; OTTO, R.; LINHARES, S. F.; CARVALHO P. H. W. In vivo evaluation of Zn foliar uptake and transport in soybean using X-ray absorption and fluorescence spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 44, p. 12172-12181, 2019.

GUERRA, M. B. B.; ADAME, A.; ALMEIDA, E.; BRASIL, M. A. S.; SCHAEFER, C. E. G. R.; KRUG, F. J. In situ Determination of K, Ca, S and Si in Fresh Sugar Cane Leaves by Handheld Energy Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry. **International Union of Pure and Applied Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 1086-1093, 2018.

HALMER, P. Seed technology and seed enhancement. In: XXVII International Horticultural Congress - IHC2006: International Symposium on Seed Enhancement and Seedling Production Technology. **Acta Horticulturae**, p. 17-26, 2008.

HENNING, F. A.; MERTZ, L. M.; JUNIOR, E. A. J.; MACHADO, R. D.; FISS, G.; ZIMMER, P. D. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 727-734, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agropecuário**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas>>. Acesso em: Março, 2021.

JOHNSON, S. E.; LAUREN, J. G.; WELCH, R. M.; DUXBURY, J. M. A comparison of the effects of micronutrient seed priming and soil fertilization on the mineral nutrition of chickpea (*Cicer arietinum*), lentil (*Lens culinaris*), rice (*Oryza sativa*) and wheat (*Triticum aestivum*) in Nepal. **Experimental Agriculture**, v. 41, p. 427-448, 2005.

LEMES, E. S.; MENDONÇA, A. O.; DIAS, L. W.; BRUNES, A. P.; OLIVEIRA, S.; FIN, S. S.; MENEGHELLO, G. E. Tratamento de sementes de soja com zinco: efeito na qualidade fisiológica e produtividade. **Colloquium Agrariae**, v. 13, n. 2, p. 76-86, 2017.

LI, T.; Di, Z.; ISLAM, E.; JIANG, H.; YANG, X; Rhizosphere characteristics of zinc hyperaccumulator *Sedum alfredii* involved in zinc accumulation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 185, p. 818-823, 2011.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination and in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176-177, 1962.

MALAVOLTA, E.; **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

MALAVOLTA, E.; BOARETTO, A. E.; PAULINO, V. T. Micronutrientes: uma visão geral. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. **Micronutrientes na agricultura**. Piracicaba: POTAFOS, p. 1-34, 1991.

MALAVOLTA, E.; KLIEMANN, H. J. **Desordens nutricionais no cerrado**. Piracicaba: Potafos, 1985. 136 p.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2 ed. Abrates, Londrina, 2015. 660 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2 ed. Academic Press, London, 1995. 889 p.

McDONALD, M. B.; VERTUCCI, C. W.; ROSS, E. H.; Seed coat regulation of soybean seed imbibition. **Crop Science**, v. 28, n. 6, p. 987-992, 1988a.

McDONALD, M. B. VERTUCCI, C. W.; ROSS, E. H.; Soybean seed imbibition: water absorption by seed parts. **Crop Science**, v. 28, n. 6, p. 993-997, 1988b.

McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

MILLÉO, M. V. R.; CRISTÓFOLI, I. Resposta da cultura da soja (*Glycine max* L. Merrill) à aplicação de acetato de zinco amoniacal via semente. **Scientia Agrária**, n. 4, v. 16, p. 1-16, 2015.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. **Controle da Produção de Sementes e Mudas - Indicadores**. Disponível em: <<http://indicadores.agricultura.gov.br/sigefsementes/index.htm>> Acesso em: 19 março, 2021.

MONTANHA, G. S.; RODRIGUES, E. S.; MARQUES, J. P. R.; ALMEIDA, E.; COLZATO, M.; CARVALHO, H. W. P. Zinc nanocoated seeds: an alternative to boost soybean seed germination and seedling development. **SN Applied Sciences**, v. 2, n. 857, 2020.

NASCIMENTO DIAS, L. B.; OLIVEIRA, F. D.; ANJOS, J. M. A utilização e a relevância multidisciplinar da fluorescência de raios X. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 39, n. 4, 2017.

NASCIMENTO FILHO, F. V; Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios x por dispersão de energia (ED-XRF) e por reflexão total (TXRF) - Fundamentos Teóricos. **Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo**, Piracicaba-SP, 1999.

OBROUCHEVA, N. V.; Distinct regulatory patterns of seed dormancy release and germination commencement. **Seed Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 265-279, 2010.

OLIVEIRA JUNIOR, A.; CASTRO, C.; PEREIRA, L. R.; DOMINGOS, C. S. Estádio fenológicos e marcha de absorção de nutrientes da soja. **Embrapa Soja**, Londrina, 2016. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/144440/1/FOR-Quadro-ESTADIO-SOJA-FINAL.pdf>>.

PARISI, J. J. D.; MEDINA, P. F. Tratamento de Sementes. **Boletim IAC**, Campinas, p. 7, 2013. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/81.pdf>

PUNSHON, T.; GUERINOT, M. L.; LANZIROTTI, A. Using synchrotron X-ray fluorescence microprobes in the study of metal homeostasis in plants. **Annals of Botany**, v. 03, p. 665 –672, 2009.

QUEROU, R.; EUVRAD, M.; GAUVRIT, C. Uptake of triticonazole, during imbibition, by wheat caryopses after seed treatment. **Pesticide Science**, v. 49, p. 284-290, 1997.

RESENDE, A. V; Adubação da soja em área de cerrado: micronutrientes. Documentos 115 - **Embrapa Cerrados**, Planaltina-DF, p. 29, 2004. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/569152/1/doc115.pdf>>

RIBEIRO, N. D.; Dos SANTOS, O. S.; MENEZES, N. L. Aplicação de doses de zinco em sementes de milho com diferentes níveis de qualidade. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, **Anais do XIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, p. 148-160, 1992.

RIBEIRO, N. D.; Dos SANTOS, O. S. Aproveitamento do zinco aplicado na semente na nutrição da planta. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 26, n. 1, p. 159-165, 1996.

RODRIGUES, M.; GOMES-JUNIOR, F. G.; MARCOS-FILHO, J. Vigor-S: Sistema para Avaliação Automatizada do Vigor de Sementes de Soja. **Journal of Seed Science**. v.42, e202042039, 2020.

SANTOS, E. L.; PÓLA, J. N.; BARROS, A. S. R.; PREE, C. E. C. Qualidade fisiológica e composição química das sementes de soja com variação na cor do tegumento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 20-26, 2007.

SANTOS, O. S. O zinco na nutrição de plantas leguminosas. **Lavoura Arrozeira**. Porto Alegre, v. 34, n. 330, p. 26-32, 1981.

SILVA, V. M.; BOLETA, E. H. M.; LANZA, M. G. D. B.; LAVRES, J.; MARTINS, J. T.; SANTOS, E. F.; SANTOS, F. L. M.; PUTTI, F. F.; JUNIOR, E. F.; WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R.; CARVALHO, H. W. P.; REIS, A. R.; Physiological, biochemical, and ultrastructural characterization os selenium toxicity in cowpea plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 150, p. 172-182, 2018.

SINGH, B.; NATESAN, S. K. A.; SINGH, B. K.; USHA, K. Improving zinc efficiency of cereals under zinc deficiency. **Current Science**, v. 88, n. 1, p. 36–44, 2003.

TAYLOR, A. G.; SALANENKA, Y. A. Seed treatments: phytotoxicity amelioration and tracer uptake. **Seed Science Research**, v. 22, p. S86-S90, 2012.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Boletim Técnico, 2. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Solos, v. 5, p. 118, 1995.

TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. Relationship of seed vigor to crop yield: A review. **Crop Science**, v. 31, p. 816-822, 1991.

VACCARO, S.; BRUN, E. J.; SCHUMACHER, V. M.; KONIG, F. G.; KLEINPAUL, I. S.; CECONI, D. E. Comparação entre três diferentes métodos de análise de tecido vegetal. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 48, p. 15-28, 2004.

VAN GRIEKEN, R.; MARGUÍ, E. **X-ray fluorescence spectrometry and related techniques**: an introduction. Momentum Press, New York, 2013.

ZHAO, F. J.; MOORE, K. L.; LOMBI, E.; ZHU, Y. G. Imaging element distribution and speciation in plant cells. **Trends Plant Science**, v. 19, p. 183-192, 2014.