METODOLOGIA ALTERNATIVA PARA O TESTE DE TETRAZÓLIO
EM SEMENTES DE SOJA

NILTON PEREIRA DA COSTA

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. JÚLIO MARCOS FILHO

Tese apresentada à
Escola Superior "Luiz
de Queiroz" da
Universidade de São
Paulo, para obtenção
do título de Doutor
em Agronomia. Área de
Concentração:
Fitotecnia

PIRACICABA

ESTADO DE SÃO PAULO - BRASIL

NOVEMBRO 1992

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

C837m Costa, Nilton Pereira da
Metodologia alternativa para o teste de tetrazólio em
sementes de soja. Piracicaba, 1992.
132p. ilus.

Tese - ESALQ
Bibliografia.

1. Semente - Embebição - Período 2. Soja - Semente -
Qualidade 3. Soja - Semente - Teste de tetrazólio 4. So-
ja - Semente - Vigor I. Escola Superior de Agricultura
Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 633.34

**METODOLOGIA ALTERNATIVA PARA O TESTE DE TETRAZÓLIO
EM SEMENTES DE SOJA**

NILTON PEREIRA DA COSTA

Aprovada em: 25.11.1992

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Júlio Marcos Filho	ESALQ/USP
Pesq. Dr. Francisco C. Krzyzanowski	CNPSO/EMBRAPA
Prof. Dr. Sílvio Moure Cícero	ESALQ/USP
Pesq. Dr. José de B. França Neto	CNPSO/EMBRAPA
Prof. Dr. Marcos Eustáquio de Sá	UNESP/Ilha Solteira

Prof. Dr. Júlio Marcos Filho
Orientador

A meus pais,
com gratidão e orgulho

A Margarete, Carolina e
Prycila, pelo reconhe-
cimento e pela paci-
ência,

D E D I C O

A G R A D E C I M E N T O S

- À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" pelo oferecimento do curso. Nessa oportunidade conheci excelentes professores que me estimularam nos momentos mais difíceis do curso. Nesse contexto, seria praticamente impossível citá-los; contudo, gostaria de expressar meus agradecimentos e minha gratidão.
- À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, pela oportunidade, apoio e suporte financeiro para a realização do curso.
- À Chefia do Centro Nacional de Pesquisa de Soja/EMBRAPA, especialmente aos Drs. Flávio Moscardi, Áureo Francisco Lantmann e Antonio Carlos Roessing pelo irrestrito apoio durante a condução da pesquisa.
- Ao Prof. Doutor Júlio Marcos Filho, meu orientador, pelo extraordinário apoio e dedicada orientação.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de pós-graduação durante o período de 1 ano.

- Às Engenheiras Agrônomas Helena P. Chamma e Ana D.L.C. Novembre e demais funcionários lotados no Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da ESALQ, pelas relevantes contribuições prestadas durante a condução dos testes preliminares.
- Aos professores Sílvio Moure Cícero, Walter Rodrigues da Silva e Francisco Ferraz de Toledo, do Departamento de Agricultura da ESALQ, pela amizade e apoio durante o transcorrer do curso.
- À Pesquisadora Maria Cristina Neves de Oliveira do Setor de Biometria e Informática do CNPSo, que enriqueceu o trabalho com o planejamento dos experimentos e sugestões relativas às análises estatísticas dos dados.
- Aos Pesquisadores Gedi Jorge Sfredo e Álvaro Manuel Rodrigues de Almeida pelo incentivo, e irrestrito apoio, especialmente pelo respeito pessoal e profissional durante o transcorrer do curso.

Aos Pesquisadores José de Barros França Neto, Francisco Carlos Krzyzanowski, Carlos Caio Machado, Ademir Assis Henning e José Francisco Ferraz de Toledo, pelas sugestões e incentivos que tanto contribuíram para o êxito do curso.

- Ao Pessoal do Laboratório de Tecnologia de Sementes do CNPSO, especialmente Eliza Mitiko Hara Nakamura, Sueli Taeko Mizubuti Basso, Vilma Cardoso Luiz Stroka, George Haber, Sônia Regina Moraes e Antonio Rocha Melchíades, pelas relevantes contribuições prestadas no decorrer das análises de laboratório.
- Ao Setor de Biometria, Serviços Auxiliares e Difusão, através da Nilza Brito Goulart, Irineu José Ferreira, Ranieri Garbosi, Wendell Giovanni Martineli, Divina Maria Ferreira Boaventura e Edna Fernandes de Souza, pelo grande apoio na parte de datilografia e digitação.
- Ao Setor de Biblioteca e Editoração, através da Neide Theófilo de Oliveira, Izilda Aparecida da Costa Calheiros e Sara Piccinini Dotto, pela ajuda nos levantamentos bibliográficos e correções.
- Ao Setor de Reprografia, através do Danilo Estevão, pelo excelente trabalho na parte de elaboração das figuras.
- Aos Colegas do Curso, especialmente Vilella, Nilson, Doni Filho, Motta e Garcia, pelo apoio e amizade em todos os momentos do curso.
- Aos Técnicos Agrícola Guilherme Goullart Filho e Luiz Arvin Betti, pela significativa contribuição na ajuda de coleta de amostras de sementes a nível de campo.

- À Cooperativa Vale do Tibagi/VALCOOP, de Londrina, PR, através da Responsável do Laboratório de Sementes, Bióloga Maria de Fátima Zoratto, pelo relevante empenho na ajuda da seleção dos lotes de sementes.
- Ao Eng^o Agr^o José Nivaldo Póla, pesquisador do Instituto Agronômico do Paraná, pela doação de 15 lotes (amostras) de sementes de soja, para a realização dos testes preliminares.
- A todos aqueles que, de uma forma direta ou indireta, colaboraram para que esta pesquisa pudesse ser realizada.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABELAS.....	XV
"CURRICULUM VITAE".....	XXVI
RESUMO.....	XXVIII
SUMMARY.....	XXX
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	05
2.1. O teste de tetrazólio.....	05
2.1.1. Histórico.....	05
2.1.2. Princípios do teste.....	06
2.1.3. Diagnose através do teste de tetrazólio em sementes de soja.....	07
2.2. Teste de tetrazólio para avaliação do vigor em sementes de soja.....	11
2.3. Embebição de água pelas sementes.....	20
2.4. Mecanismo de reação do tetrazólio e inter- pretação da coloração das sementes.....	27
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
3.1. Estudo preliminar.....	34
3.2. Estudo principal.....	37
3.2.1. Cultivares empregados.....	37
3.2.2. Coleta, padronização e caracteri- zação dos lotes de sementes em dife- rentes níveis de qualidade.....	39

3.2.3. Armazenamento das amostras.....	41
3.3. Testes executados.....	42
3.3.1. Germinação.....	42
3.3.2. Envelhecimento acelerado.....	43
3.3.3. Emergência das plântulas em areia (casa-de-vegetação).....	44
3.3.4. Condutividade elétrica - ASA 610....	45
3.3.5. Embebição e grau de umidade das sementes.....	46
3.3.6. Amostragem, pré-condicionamento e coloração das sementes.....	47
3.3.7. Avaliação e interpretação das sementes após o processo de coloração no tetrazólio.....	48
3.3.8. Análise estatística.....	60
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
4.1. Testes preliminares.....	62
4.2. Estudo principal.....	71
4.2.1. Cultivar OCEPAR 4 - Iguaçu.....	74
4.2.2. Cultivar BR-16.....	83
4.2.3. Cultivar IAS-5.....	92
4.2.4. Cultivar BR-30.....	100
4.2.5. Cultivar BR-4.....	108
4.3. Considerações gerais.....	117
5. CONCLUSÕES.....	126
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	127

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Corte longitudinal de uma semente de soja mostrando suas estruturas embrionárias. Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988).....	54
2	Corte longitudinal de duas sementes de soja, mostrando a ocorrência de danos no eixo-radícula-hipocótilo. Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988).....	54
3	Todas as estruturas do embrião estão intactas, coloração uniforme e superficial indicando uma penetração lenta da solução de tetrazólio. A superfície interna dos cotilédones está colorida apenas nas bordas; todos os tecidos do embrião estão normais e tãrgidos. Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988).....	55

- 4 Semente com aspecto de mosaico devido a um processo lento de embebição. Os tecidos se apresentam firmes e na face interna dos cotilédones geralmente aparece uma cavidade central de coloração amarelada, indicando insuficiente absorção de água. Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988)..... 55
- 5 Dano (s) devido (s) à picada de percevejo, com área total não maior do que a mostrada na ilustração e profundidade máxima de 0,5 mm. A localização deve ser afastada da região vascular. A região afetada apresenta-se mais ou menos necrosada (tecido morto, coloração esbranquiçada de aspecto pulverulento; às vezes, com o sinal de punctura bem visível, outras vezes, não). Superfície interna dos cotilédones conforme caracterizada na FIG. 3. Fonte: FRANÇA NETO et alii. (1988)..... 56

- 6 Estrias pequenas e superficiais ocorrendo na superfície externa dos cotilédones. Uma semente dessa classe indica pequenos sinais de deterioração por "umidade". Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988)..... 56
- 7 Dano ocasionado por "umidade", mas a faixa pode ser de tecido de coloração branco-leitoso (tecido morto), numa superfície não maior do que a da ilustração. Superfície interna com uma faixa de tecido morto numa espessura máxima de 0,5 mm. Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988)..... 57
- 8 Área de coloração vermelho-carmim, forte em ambos os cotilédones, cobrindo menos do que a metade dos mesmos. A superfície interna também apresenta área de coloração vermelho-carmim forte. A região vascular, porém, não deve estar afetada. Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988)..... 57
- 9 Área de tecido morto menor do que a metade da área total dos cotilédones. Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988):..... 58

- 10 Dano (s) devido (s) à picada de percevejos, afetando a região do ponto de ligação de um dos cotilédones e lesionando, parcial e internamente, a área correspondente do segundo cotilédone. Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988)..... 58
- 11 Esta classe é caracterizada pela presença de lesões proporcionadas por "umidade". A quantidade de tecido deteriorado é grande tornando a semente não viável. Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988)..... 58
- 12 Fratura do eixo embrionário seccionando o cilindro central, tornando a semente inviável. Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988)..... 59
- 13 Plúmula com coloração vermelho-carmim forte (deteriorada), não tendo as mínimas condições de germinação. Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988)..... 59

14	Sementes apresentando as estruturas do embrião totalmente mortas, com os tecidos flácidos e completamente deteriorados. Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988).....	59
15	Resultados de graus de umidade (%) das sementes dos cultivares BR-16 e BR-30, submetidas a 6 períodos de embebição e 4 temperaturas, correspondente ao teste preliminar do 1º experimento. 1992.	68
16	Resultados de vigor (tetrazólio 1-3) de sementes dos cultivares Davis, BR-29 e BR-24, submetidas a 7 períodos de embebição na temperatura de 25°C, correspondente ao teste preliminar do 2º experimento. 1992.....	69
17	Resultados de germinação potencial (tetrazólio 1-5) de sementes dos cultivares Davis, BR-29 e BR-24, submetidas a 7 períodos de embebição à temperatura de 25C, correspondente ao teste preliminar do 2º experimento. 1992.	70

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1	Principais características dos cultivares estudados nessa pesquisa. (Recomendações Técnicas para cultura da soja no Paraná 1991/92. Londrina, EMBRAPA-CNPSO/OCEPAR.....	38
TABELA 2	Dados médios da qualidade fisiológica inicial de lotes de sementes dos cultivares Ocepar 4-Iguaçu, BR-16, IAS-5, BR-30 e BR-4. 1992.	40
TABELA 3	Dados médios do peso de 100 sementes de 5 cultivares de soja classificada em diferentes níveis de vigor, 1992.....	41
TABELA 4	Valores médios, por decêndios, referentes às temperaturas média, máxima e mínima (°C) relacionados ao ambiente de armazenamento das sementes de soja. Londrina, PR. Abril a agosto de 1991.....	42

TABELA 5	Graus de umidade (%) de sementes secas de 5 cultivares de soja classificada em diferentes níveis de vigor. 1992	47
TABELA 6	Esquema de análise de variância para cada cultivar, com os dados obtidos nos testes de laboratório. 1992.	61
TABELA 7	Resultados de deterioração por "umidade", danos mecânicos e lesões de percevejos, sugadores fornecidos pelo teste de tetrazólio, de sementes dos cultivares Davis, BR-24 e BR-29, submetidas a 7 períodos de embebição na temperatura de 25°C, correspondente ao teste preliminar do 2º experimento. 1992.	66
TABELA 8	Valores de quadrados médios referentes às análises de variância dos testes de vigor (TZ 1-3), germinação potencial (TZ 1-5) e grau de umidade das sementes para os diferentes tratamentos correspondentes a 5 cultivares. 1992.....	72

TABELA 9	Valores de quadrados médios referentes às análises de variância dos testes de deterioração por "umidade" aparente (TZ 6-8), dano mecânico (TZ 6-8) e dano de percevejo (TZ 6-8) das sementes para diferentes tratamentos correspondentes a 5 cultivares. 1992.....	73
TABELA 10	Valores de vigor (TZ 1-3) de sementes de soja do cultivar Ocepar 4- Iguaçu, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992	75
TABELA 11	Valores de germinação potencial (TZ 1-5) de sementes de soja do cultivar Ocepar 4- Iguaçu, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	76
TABELA 12	Valores de deterioração por "umidade" (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar Ocepar 4- Iguaçu, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	78

TABELA 13	Valores de danos mecânicos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar OCEPAR 4 - IGUAÇU, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992	79
TABELA 14	Valores de danos de percevejos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar Ocepar 4- Iguaçu, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992	80
TABELA 15	Valores de graus de umidade (%) de sementes de soja do cultivar Ocepar 4- Iguaçu, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	82
TABELA 16	Valores de vigor (TZ 1-3) de sementes de soja do cultivar BR-16, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	84

TABELA 17	Valores de germinação potencial (TZ, 1-5) de sementes de soja do cultivar BR-16, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	85
TABELA 18	Valores de deterioração por "umidade" (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-16, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	87
TABELA 19	Valores de danos mecânicos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-16, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	89
TABELA 20	Valores de danos de percevejos (TZ 6-8) das sementes de soja do cultivar BR-16, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	90
TABELA 21	Valores de graus de umidade (%) de sementes de soja do cultivar BR-16, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperturas. 1992.....	91

TABELA 22	Valores de vigor (TZ 1-3) de sementes de soja do cultivar IAS-5, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	93
TABELA 23	Valores de germinação potencial (TZ 1-5) de sementes de soja do cultivar IAS-5, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	94
TABELA 24	Valores de deterioração por "umidade" (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar IAS-5, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	96
TABELA 25	Valores de danos mecânicos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar IAS-5, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	97

TABELA 26	Valores de danos de percevejos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar IAS-5, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	98
TABELA 27	Valores de graus de umidade (%) de sementes de soja do cultivar IAS-5, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	99
TABELA 28	Valores do vigor (TZ 1-3) do cultivar BR-30, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	102
TABELA 29	Valores de germinação potencial (TZ 1-5) de sementes de soja do cultivar BR-30, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	103
TABELA 30	Valores de deterioração por "umidade" (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-30, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	104

TABELA 31	Valores de danos mecânicos (TZ 6-8) de sementes de soja cultivar BR-30, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	105
TABELA 32	Valores de danos de percevejos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-30, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	106
TABELA 33	Valores de graus de umidade (%) de sementes de soja do cultivar BR-30, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	107
TABELA 34	Valores de vigor (TZ 1-3) de sementes de soja do cultivar BR-4, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	111
TABELA 35	Valores de germinação potencial (TZ 1-5) de sementes de soja do cultivar BR-4, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	112

TABELA 36	Valores de deterioração por "umidade" (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-4, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	113
TABELA 37	Valores de danos mecânicos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-4, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	114
TABELA 38	Valores de danos de percevejos (TZ 6-8) das sementes de soja do cultivar BR-4, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	115
TABELA 39	Valores de graus de umidade (%) de sementes de soja do cultivar BR-4, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.....	116

TABELA 40	Relação dos tratamentos de embebição que propiciaram grau de umidade das sementes que estatisticamente não diferiram daquele apresentado pela testemunha (16h/25°C) para os 5 cultivares de soja com 3 níveis de vigor. 1992.....	123
TABELA 41	Coeficiente de correlação simples (r) entre vigor (tetrazólio 1-3), correspondentes a 3 níveis de temperaturas e 5 períodos de embebição, com os testes de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em casa-de-vegetação, condutividade elétrica, dos cultivares OCEPAR 4-IGUAÇU, BR-16, IAS-5, BR-30 e BR-4, com 3 níveis de vigor. 1992.....	124

TABELA 42	Coeficiente de correlação simples (r) entre germinação potencial (tetrazólio 1-5), correspondentes a 3 níveis de temperaturas e 5 períodos de embebição, com os testes de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em casa-de-vegetação, condutividade elétrica, dos cultivares OCEPAR 4 - IGUAÇU, BR-16, IAS-5, BR-30 e BR-4 com 3 níveis de vigor. 1992.....	125
-----------	--	-----

"CURRICULUM VITAE"**1) IDENTIFICAÇÃO**

- 1.1. Nome: Nilton Pereira da Costa
- 1.2. Data de nascimento: 23/02/1945
- 1.3. Naturalidade: Esperança, Paraíba

2) DADOS PESSOAIS

- 2.1. Profissão: Engenheiro Agrônomo
- 2.2. Atividade: Pesquisador
- 2.3. Área: Tecnologia de Sementes de Soja
- 2.4. Empresa: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Centro Nacional de Pesquisa de Soja -CNPSo/Londrina, PR.
- 2.5. Telefone: (0432) 20-4166

3) TREINAMENTO FORMAL

- 3.1. Graduação:
 - A) Curso: Engenharia Agrônômica:
 - B) Universidade: Universidade Federal da Paraíba/PB
 - C) Início: Agosto de 1971
 - D) Término: Julho de 1975
- 3.2. Pós-Graduação
 - 3.2.1. Mestrado
 - A) Curso: Tecnologia de Sementes
 - B) Universidade: Universidade Federal de Pelotas/RS
 - C) Início: Março de 1976
 - D) Término e Defesa de Tese: Abril de 1978
 - 3.2.2. Doutorado
 - A) Curso: Fitotecnia
 - B) Universidade: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP/PIRACICABA/SP
 - C) Início: 1989
 - D) Término: 1992

4) PUBLICAÇÕES RECENTES

COSTA, N.P.; KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B. & HENNING, A.A. Calibração do teste de envelhecimento precoce para sementes de soja. Informativo ABRATES, BRASÍLIA, 1(4);160, 1991.

COSTA, N.P.; +PEREIRA, L.A.G.; FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. Zoneamento Ecológico do Estado do Paraná para produção de sementes de cultivares precoce de soja. Londrina: EMBRAPA-CNPSO. 1992. 28p. (Boletim de Pesquisa, 2).

METODOLOGIA ALTERNATIVA PARA O TESTE DE TETRAZÓLIO
EM SEMENTES DE SOJA

Autor: NILTON PEREIRA DA COSTA

Orientador: Prof. Dr. JÚLIO MARCOS FILHO

RESUMO

Com o objetivo de encontrar uma alternativa metodológica visando a redução do período de pré-condicionamento (tempo de embebição) que antecede o processo de coloração das sementes para a realização do teste de tetrazólio, foram estudados 4 períodos de embebição, 4h, 6h, 8h e 10h em 2 temperaturas (35°C e 42°C), tendo como testemunha o procedimento padrão de 16h de embebição a 25°C; em 15 lotes de sementes de soja fiscalizada dos cultivares Ocepar 4-Iguaçu, BR-16, IAS-5, BR-30 e BR-4.

Foram realizados, também, testes de germinação, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica e emergência das plântulas em areia, visando estabelecer correlação com os diferentes períodos de embebição/temperaturas utilizados para os 5 cultivares. Os estudos foram desenvolvidos nos laboratórios de sementes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"-ESALQ, da Universidade de São Paulo-USP, em Piracicaba, SP, e do

Centro Nacional de Pesquisa de Soja-CNPSO, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA, em Londrina, PR.

A análise dos dados e a interpretação dos resultados obtidos no presente trabalho, permitiram concluir que há possibilidade da redução do período de tempo necessário para a condução do teste de tetrazólio em amostras de sementes de soja, visando tanto a avaliação da germinação potencial (TZ 1-5) como a do vigor (TZ 1-3).

A temperatura empregada para o pré-condicionamento das amostras é fundamental. Assim, a embebição das sementes a 42°C durante 8h a 10h e, eventualmnte, durante 6h, permite o posterior desenvolvimento de coloração nítida e suficiente para exame adequado das áreas vitais das sementes e a identificação de sintomas de deterioração causados por "umidade", danos provocados por percevejos e ocorrência de injúrias mecânicas.

De maneira geral, sementes dos cultivares em estudo apresentavam bom aspecto de coloração no teste de tetrazólio, quando o grau de umidade das sementes atingiu valor mínimo de 36%.

**Alternative Methodology for the Tetrazolium
Test for Soybean Seeds**

Author: Nilton Pereira da Costa

Adviser: Prof. Dr. JÚLIO MARCOS FILHO

SUMMARY

The objective of this study was to determine an alternative methodology that can reduce the preconditioning period (imbibition time) before the staining process in the tetrazolium test for soybean seeds. Fifteen lots of "fiscalized" soybean seeds of the cultivars OCEPAR 4-Iguaçu, BR-16, IAS-5, BR-30 and BR-4 with different levels of quality, were submitted to four periods of imbibition (4, 6, 8 and 10 h) under two temperatures (35°C and 42°C). The standard procedure used for soybean seeds in the tetrazolium test (16 h/25°C) was used as the control.

Additional tests were performed on these seeds: standard germination, accelerated aging, electric conductivity and emergence in sand. The results of these tests were correlated with the ones obtained by the tetrazolium test at the different preconditioning periods.

The analyses were carried out in the seed laboratories of "Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz" - ESALQ/University of Sao Paulo, Piracicaba, SP, and National Center for Soybean Research - EMBRAPA/CNPSo, Londrina, PR. BRAZIL.

It was concluded that it is feasible to reduce the preconditioning period in the tetrazolium test for determining vigor [TZ (1-3)] and germination [(TZ (1-5))] potentials for soybean seeds.

The temperature used during the preconditioning process of the seeds affects the precision of the test: preconditioning at 42°C for 8 to 10 h, and eventually for 6h, results in adequate staining patterns of the seed structures. This allows the identification of the typical patterns that result from seed deterioration (field weathering), stink bug damage and mechanical damage.

In general, seeds of the studied cultivars presented adequate staining pattern by tetrazolium when seed moisture content reached the minimum value of 36%.

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja tem apresentado expansão de área bastante significativa nos últimos anos, especialmente, na região dos cerrados. Entretanto, apesar de sua potencialidade, a cultura apresenta uma série de problemas, destacando-se, dentre estes, as dificuldades para a produção de sementes de alta qualidade. Já é notoriamente conhecido que qualidade, quando referido à semente, é um termo amplamente utilizado para descrever uma gama de características que definirão certos padrões, como pureza física e varietal, viabilidade, vigor e aspecto sanitário. Segundo DELOUCHE (1969), as falhas no estabelecimento de uma população de plantas agronomicamente aceitável, podem ser decorrentes de uma série de fatores ambientais, tais como, deficiência hídrica, presença de organismos patogênicos, pragas do solo, injúria química e, talvez, o mais agravante seja o emprego de sementes de baixa qualidade.

Diferentes estudos têm mostrado claramente a impraticabilidade de produzir sementes de alta qualidade de alguns genótipos de soja, em regiões ao norte do paralelo

24^oS. Nestas localidades, os rigores climáticos tendem a comprometer a qualidade da semente colhida (FRANÇA NETO & HENNING, 1984). Por sua vez, DELOUCHE & BASKIN (1973) destacam que a semente, sendo um organismo vivo, sofre o processo de deterioração que pode ser considerado como um conjunto de transformações degenerativas e irreversíveis que ocorrem após a semente atingir o nível máximo de qualidade fisiológica

Porém, a irreversibilidade deste processo está sendo questionado. Alguns trabalhos indicam que a embebição lenta, melhora a integridade das membranas (reorganiza a membrana) restaura as organelas e a ativação ou síntese de enzimas envolvidas na germinação. Em consequência, há aumento e uniformidade da emergência, restabelecendo o vigor. Contudo, PANDEY (1989) destaca que o aprimoramento reverte o efeito da deterioração devido à idade da semente, pois ocorre uma reorganização das membranas durante a hidratação da semente, aumentando a germinação. Já TILDEN et alii (1984) trabalhando com sementes de soja, constatou que o reparo durante a germinação é um evento hipotético suposto por alguns cientistas e questionado por outros. O reparo inclui a reorganização espontânea da membrana, a qual ocorre durante a hidratação, sendo interpretado como possível reparo metabólico resultante de um "turnover" dos componentes

estruturais. Os efeitos adversos no envelhecimento das sementes, eram resultantes de injúrias de embebição evidente pelo exudado eletrolítico. As injúrias foram consideradas reversíveis. As sementes de baixo vigor apresentaram uma germinação de 20% e, após o tratamento esta superou os 80%.

FRANÇA NETO et alii (1984) testando os cultivares Cristalina e Doko através do processo de lenta reidratação das sementes em ambientes com temperaturas de 25°C durante 48h, observaram que os benefícios propiciados pelo sistema de recuperação da qualidade foram eficientes apenas nas sementes tratadas com fungicidas, pois nessas sementes verificou-se um incremento da ordem de 15% na germinação, devido principalmente a uma acentuada redução no índice de plântulas anormais.

A literatura tem caracterizado que a avaliação do vigor da semente, como teste de rotina, tem sido uma atividade pouco expressiva, restringindo-se a algumas culturas em determinados estados do País. Desta forma, o emprego de testes rápidos em programas de controle de qualidade, torna-se uma ferramenta imprescindível para a avaliação do vigor e de outras características que comprometem o poder germinativo do lote. Dentre estes, pode-se mencionar que o teste de tetrazólio tem sido considerado como uma alternativa promissora, devido à

rapidez e à eficiência na determinação da viabilidade, do vigor, da deterioração por "umidade" e danos mecânicos, de secagem e por percevejos. As informações obtidas auxiliam no processo do controle de qualidade durante as etapas de pré-colheita, beneficiamento e armazenamento de sementes de soja. Esses dados permitem estabelecer bases no processo de comercialização.

Entretanto, a atual metodologia preconiza um período de 16h de pré-condicionamento (tempo de embebição) para a realização do teste de tetrazólio. Esse período, relativamente longo, muitas vezes, dificulta e retarda a geração de informação), especialmente quando há urgência na sua obtenção. Tal fato tem sido questionado por muitos produtores de sementes, que sugerem estudos para o aprimoramento do teste, no que diz respeito à redução do tempo de embebição.

Diante deste enfoque, esta pesquisa foi planejada e executada com o objetivo de estudar 4 períodos de embebição (4h, 6h, 8h e 10h) em 2 temperaturas (35°C e 42°C), tendo como testemunha o procedimento padrão de 16h de embebição a 25°C, em 5 cultivares de soja, procurando novas alternativas que possam viabilizar a realização do teste de tetrazólio em menor espaço de tempo do que preconiza a metodologia atual.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O teste de tetrazólio

2.1.1. Histórico

A literatura internacional tem mostrado, ao longo dos anos, como ocorreu a origem da maioria dos testes empregados atualmente para avaliação da qualidade da semente. No caso do tetrazólio, KUHN & JERCHEL (1941), citados por FRANÇA NETO et alii (1988) descobriram que os sais de tetrazólio se reduziam nos tecidos vivos, resultando um composto de cor vermelha, o formazan. Ciente desses resultados, LAKON (1949) abandonou o teste de selenito e se dedicou a trabalhar com os sais de tetrazólio. Inicialmente, pesquisou milho e outros cereais, descobrindo que o melhor sal para avaliação de viabilidade das sementes era o cloreto de 2, 3, 5 - trifenil tetrazólio.

Os resultados obtidos por LAKON foram divulgados nos EUA após a II Guerra Mundial e despertaram o interesse de vários cientistas. Todavia, o grande impulso ao conhecimento dessa técnica e a divulgação de suas aplicações foram decorrentes dos trabalhos conduzidos pelo

Dr. ROBERT P. MOORE, da Universidade da Carolina do Norte (MARCOS FILHO et alii, 1987; FRANÇA NETO et alii, 1988).

No Brasil, a metodologia do teste de tetrazólio é conhecida há, aproximadamente, vinte e cinco anos. Porém, apenas a partir das atividades do programa AGIPLAN (no início da década de 1970) é que ocorreu uma divulgação mais ampla. Recentemente, graças a trabalho desenvolvido por tecnólogos de sementes do CNPSo/EMBRAPA, o teste de tetrazólio vem se tornando mais conhecido e utilizado, em várias regiões do Brasil. Segundo MARCOS FILHO et alii (1987), o teste de tetrazólio ainda não tem uso proporcional à sua importância, devido à falta de treinamento de pessoal e à deficiência de conhecimentos sobre a metodologia adequada para várias espécies.

2.1.2. Princípios do teste

O teste de tetrazólio baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases, que atuam na glicólise e ciclo de Krebs. Essas enzimas, particularmente as desidrogenases do ácido málico, catalisam a reação de redução do sal de tetrazólio (cloreto 2,3,5 trifenil tetrazólio) nas células vivas. Quando a semente de soja é imersa na solução de tetrazólio, esta é difundida através dos tecidos ocorrendo, nas células vivas, a reação de redução que resulta na formação de um composto conhecido por formazan.

SMITH (1952) fez um estudo detalhado da reação e concluiu que, nos embriões de milho, a redução do cloreto de 2, 3, 5 trifenil tetrazólio é catalisada pela difosforopiridina-nucleotídea ligada às desidrogenases (sistema málico e alcoólico) e mediada pela diaforase. Ainda verificou que as desidrogenases aeróbicas, tais como xantina oxidase, igualmente catalisam essa reação. O teste está diretamente relacionado com a atividade de sistemas particulares de enzimas. A perda de atividade desses sistemas tende a ser paralela à perda de viabilidade da semente.

DELOUCHE et alii (1976) argumentam que sementes deterioradas ou danificadas mecanicamente desenvolvem uma coloração rápida, intensa e profunda enquanto que as sementes vigorosas apresentam uma coloração vermelha e brilhante. As sementes mortas não desenvolvem coloração. Essas diferenças de coloração, juntamente com os conhecimentos de algumas características, permitem a avaliação da presença, localização e natureza dos distúrbios dos tecidos embrionários (MOORE, 1973).

2.1.3. Diagnose através do teste de tetrazólio em sementes de soja

O teste de tetrazólio é um método rápido que estima a energia germinativa, germinação potencial e a possível influência de outros fatores que impedem a

emergência das plântulas. A interpretação é, baseada na alteração de coloração dos tecidos vivos em presença de uma solução de sal de tetrazólio. Conforme explanação anterior, alteração na coloração é consequência da atividade de sistemas enzimáticos específicos, intimamente relacionados com a viabilidade das sementes. Desta forma, o analista examinando as diferenças de coloração, a localização e a natureza dos distúrbios, pode obter uma rápida estimativa da viabilidade ou vitalidade do embrião. Segundo MOORE (1962), a interpretação do embrião colorido para determinação da percentagem de germinação requer boa visão, paciência, experiência e bom senso. Ainda destaca que a cor pode ser considerada como um dos segmentos na previsibilidade da germinação da semente.

A principal vantagem do teste de tetrazólio reside na probabilidade de avaliação das sementes, em poucas horas. Os dados obtidos são empregados no estabelecimento de bases para a comercialização, determinação do ponto de colheita, avaliação da viabilidade das sementes quando atingem a maturidade, controle da qualidade pós-colheita e a identificação dos problemas. Permitem, ainda, uma estimativa do vigor das sementes.

Diversos trabalhos têm mostrado os efeitos adversos de deterioração por "umidade". MOORE (1973), DELOUCHE (1973), MONDRAGON & POTTS (1974) e PEREIRA &

ANDREWS (1985) afirmam que sementes de soja expostas às condições de alta temperaturas, chuvas e/ou umidade relativa do ar elevada (orvalho, neblina) sofrem danos expressivos no tocante ao processo de deterioração. Ainda acrescentam que a alternância, rehidratação e desidratação, após a maturação morfológica, causam áreas necróticas no eixo hipocótilo-radícula e cotilédones, além de poder provocar fraturas ao longo do hipocótilo.

Além disso, verifica-se a degradação de lipídios e proteínas, redução da atividade enzimática e queda da germinação e vigor.

Contudo, FRANÇA NETO & HENNING (1984) explicam que as sucessivas expansões e contrações do volume das sementes ocasionam a formação de rugas nos cotilédones na região oposta ao hilo. Essas características são bastante peculiares e são nitidamente observadas através do teste de tetrazólio.

Por outro lado, tem sido constatado que a semente de soja é extremamente vulnerável a impactos mecânicos, uma vez que as partes vitais do embrião como radícula, hipocótilo e plâmula estão situadas sob um tegumento pouco espesso que praticamente não lhes oferece proteção. Alguns estudos têm demonstrado que a principal fonte de danos é durante a operação de colheita, ainda que grande parte desses danos possam resultar das operações de

secagem, beneficiamento e semeadura. Segundo FRANÇA NETO (1989) existem três tipos de danos mecânicos que são facilmente identificados pelo teste de tetrazólio, como rachaduras, sementes partidas e injuriadas.

Outro problema que tem resultado em relevantes prejuízos à qualidade das sementes é o que resulta de lesões provocadas por percevejos. As espécies mais freqüentes em lavouras de soja, são *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii* e *Euschistus heros*; porém, outras espécies em menores proporções, também são encontradas, tais como: *Edessa meditabunda*, *Acrosternum* spp., e *Dichelops* spp., (VILLAS BÔAS et alii., 1982).

Convém destacar que lotes de sementes com danos dos principais percevejos, podem ser colonizados pelo fungo *Nematospora coryli*, o que provoca acentuada deterioração. O período crítico de incidência desses insetos, segundo PANIZZI et alii (1979), é no estágio de desenvolvimento inicial e de enchimento de vagens, sendo que a recomendação do controle prevê a aplicação de defensivos quando forem encontrados dois percevejos/m em lavouras comerciais, e um percevejo/m, quando a lavoura for para produção de sementes. JENSEN & MENSON (1972) verificaram, em 17 cultivares de soja, que o local da lesão de percevejos talvez provoque danos substanciais, quando se

compara com o número de picadas desse inseto. Os autores justificam que uma lesão no eixo embrionário pode comprometer severamente a germinação e o vigor. O teste de tetrazólio detecta, com alta eficiência, lesões praticamente imperceptíveis provocadas por tais insetos. Sementes severamente lesionadas, além de apresentarem alteração na sua composição química, sofrem depreciação de sua qualidade fisiológica e sanitária (VILLAS BÔAS et alii; 1982).

2.2. Teste de tetrazólio para avaliação do vigor em sementes de soja

A indústria de sementes tem procurado, aprimorar os seus técnicos em diferentes etapas do processo produtivo, visando principalmente o controle de qualidade da semente. Com base nesse raciocínio, o uso de testes mais sofisticados visando a garantia do produto comercializado, tem sido a grande arma dos produtores mais hábeis.

Segundo MARCOS FILHO et alii (1987) os diferentes testes que compõem a análise de sementes, como pureza física, grau de umidade, exame de silvestres nocivas e as determinações adicionais (peso volumétrico, peso de mil sementes, exame de sementes com e sem casca, etc.) são efetuados durante um período de tempo relativamente curto. Isto, porém, não ocorre com o teste de germinação, que

somente é completado após vários dias, semanas ou até meses, principalmente em espécies que requerem tratamento adicional para superar a dormência.

Ainda, segundo esses autores, considerando-se que freqüentemente a tomada de decisões durante o manejo e comercialização das sementes deve ser baseada em diagnóstico mais completo possível de sua qualidade e que informações referentes à viabilidade são indispensáveis. O desenvolvimento de métodos para determinar o potencial de germinação em um período relativamente curto, assume grande importância em programas de produção de sementes. Contudo, COSTA et alii. (1988), mencionam que os testes de vigor fornecem resultados mais precisos acerca da qualidade de um lote de sementes. Além disso, tais testes podem auxiliar os produtores na escolha dos melhores lotes, dando informações mais precisas sobre a eficácia da sementeira. Segundo CARVALHO (1986) para efeitos de políticas de armazenamento e comercialização (tanto na compra quanto na venda de lotes) e, mesmo para efeito de plantio, testes de vigor têm se mostrado como fontes de informações bem mais valiosas do que o teste de germinação. São muitas as companhias de sementes, principalmente nos EUA e na Europa, que adotaram grupos de testes de vigor para auxiliá-las em processos decisórios sobre comparações de lotes. Esses testes são só

para o controle interno, não se divulgando ao público os seus resultados.

No Brasil, tem sido uma preocupação, cada vez maior dos melhoristas de plantas, incluir entre os parâmetros a serem aprimoradas, o vigor da semente. Sabe-se que o vigor de uma semente é basicamente uma função de suas características genéticas. Assim sendo, ao procurarem desenvolver genótipos superiores, os melhoristas têm procurado, também, incluir maior vigor nas sementes.

Adotando um grupo de testes de vigor para avaliar a qualidade das sementes de seu material, os melhoristas passa a dispor, sem dúvida, de um valioso instrumento de trabalho.

De acordo com KRZYZANOWSKI & FRANÇA NETO (1991) a avaliação do vigor da semente, como rotina por parte da indústria brasileira de sementes, vem evoluindo paulatinamente, à medida que os testes desenvolvidos vêm sendo calibrados e fornecem, principalmente, precisão nos resultados, fator fundamental no processo de tomada de decisão durante a produção e comercialização de sementes. Os referidos autores ainda mencionam que os testes de vigor têm um grande potencial de utilização no sistema de controle de qualidade tendo em vista evitar o manuseio e comercialização de matéria-prima que não cumpra com os pré-

requisitos que uma semente, destinada à multiplicação da espécie, deve dispor.

Para as condições climáticas brasileiras onde se verificam excesso de calor acompanhados, normalmente, de chuvas na maturação das sementes, se o vigor fosse um parâmetro avaliado na recepção da semente, provavelmente o porcentual de lotes com problemas durante o armazenamento seria relativamente menor e restrito a problemas ocasionais.

Condições ambientais favoráveis, aliadas ao vigor das sementes utilizadas na semeadura, são fatores muito importantes no estabelecimento de uma lavoura uniforme. Embora o termo vigor venha sendo empregado extensivamente entre produtores e pesquisadores de sementes, de acordo com DELOUCHE (1973) não há uma definição que seja aceita sem limitações. ISELY (1957) foi um dos primeiros a propor uma conceituação de vigor de sementes, definindo-o como sendo a soma de todos os atributos que favorecem o estabelecimento das plântulas, em condições adversas. Todavia, DELOUCHE (1973) aponta algumas restrições a essa definição, sugerindo que a expressão "condições adversas" seja substituída por "condições de campo".

Enquanto isto, diversos pesquisadores têm procurado caracterizar o vigor de diferentes formas

POLLOCK & ROOS (1972) afirmam que o conceito de vigor pode ser considerado, primeiramente, como potencial máximo para o estabelecimento da plântula e, secundariamente, como a diminuição potencial daquele máximo até que a semente morra, isto é, tem um potencial de estabelecimento igual a zero. O máximo é fixado pela constituição genética da planta e, normalmente, é atingido por parte de cada população de sementes.

Na avaliação do vigor de sementes, segundo as tendências atualmente defendidas por especialistas no assunto, são considerados eficientes os testes que permitem separar os lotes em diferentes categorias de vigor, desde que essas informações correspondam ao mesmo grau de separação proporcionado pela emergência das plântulas no campo. Contudo, MARCOS FILHO et alii. (1987) acrescentam que a emergência é afetada por outros fatores, além do vigor das sementes, de modo que os resultados dos testes de vigor precisam ser interpretados com a devida cautela. Portanto, é fundamental que um determinado teste permita distinguir, com elevado grau de segurança e consistência dos resultados, lotes de alto vigor daqueles que expressam baixo vigor.

De acordo com BARROS (1988), atualmente é crescente, no setor de sementes, a necessidade de métodos que permitam avaliar de maneira rápida e eficiente, a

qualidade fisiológica das sementes. A rapidez na obtenção das informações pode ser extremamente útil em programas de controle de qualidade, possibilitando uma maior agilidade na utilização de recursos e também da infra-estrutura disponível.

Ainda com relação ao assunto, KRZYZANOWSKI & FRANÇA NETO (1991) destacam que o parâmetro vigor, apesar de fundamental para caracterizar a qualidade da semente, ainda tem muito a avançar em termos de controle de qualidade na indústria de sementes, a qual não pode prescindir do apoio das universidades e instituições de pesquisa que atuam na área de ciência, criando assim uma relação muito salutar de geração e adoção de tecnologia.

Os resultados dos testes de envelhecimento acelerado têm sido utilizados, principalmente, para avaliação do nível de vigor e/ou do potencial do armazenamento de lotes de sementes. A relação entre esse teste e a emergência das plântulas em campo tem sido menos consistente, conforme observação feita por MARCOS FILHO et alii (1987). Ainda dentro desse raciocínio COSTA et alii (1988) observaram que o teste de envelhecimento, conduzido pelo "Método de câmara" ou "Método gerbox" foi eficiente para identificar lotes com baixo vigor e potencial fisiológico deficiente. Porém, as relações entre envelhecimento e emergência, apesar de verificadas,

dependeram da época de instalação do teste e do período de envelhecimento utilizado.

Essas observações reforçam a necessidade do estabelecimento de objetivos bem definidos para a utilização dos resultados dos testes de vigor, bem como a dificuldade para se predizer ou prognosticar em laboratório o que vai ocorrer em campo ou durante o armazenamento (MARCOS FILHO et alii, 1987).

Alguns trabalhos têm destacado a falta de confiabilidade existente nos testes de laboratórios, quando os correlacionam com a desempenho de sementes de soja em condições de campo.

Diferentes estudos têm indicado que o teste de tetrazólio apresenta boa correlação com diferentes métodos de vigor empregados atualmente. Com esse objetivo COSTA et alii. (1988) trabalhando com 10 lotes de sementes de soja, constataram que o vigor (determinado pelo teste de tetrazólio) apresentou relação razoável com os valores de emergência das plântulas em campo e com o teste de envelhecimento acelerado. Por outro lado, BARROS (1988) detectou que os testes de tetrazólio, pH de exudato (fenolftaleína com 30 minutos de embebição) e condutividade elétrica são suficientes para a obtenção de informações rápidas e utilizáveis em programa de controle de qualidade de sementes de soja, possibilitando a identificação de

lotes com diferentes níveis de qualidade e potencial de emergência das plântulas em campo. Os resultados ainda mostraram que os testes de tetrazólio, (1-3) e de condutividade elétrica podem ser considerados mais sensíveis, pois os testes para avaliação de viabilidade tendem a superestimar a qualidade fisiológica das sementes.

PASHA & DAS (1982) comparando a viabilidade de sementes de soja, através do teste de tetrazólio com o teste de germinação, encontraram uma clara associação entre os resultados, determinando corretamente o aumento ou diminuição da germinação. Esses autores consideram o teste seguro, confiável e apropriado para determinar a capacidade de germinação de um lote de sementes de soja.

Ainda com relação ao assunto, JOHNSON & WAX (1978) usando o teste de tetrazólio para caracterização da viabilidade e comparando-o com os testes de germinação, envelhecimento acelerado e teste de frio, procuraram estabelecer a relação com a emergência em campo. Os resultados desse trabalho mostraram que o teste de tetrazólio correlacionou-se com a emergência em campo, apesar do coeficiente de correlação obtido ser inferior aos dos demais testes. Por sua vez, PEREIRA (1974) através de um estudo com sementes de soja, verificou que uma boa indicação da emergência em campo, pode ser fornecida pelos valores obtidos no teste de tetrazólio, (Vigor 1-3).

Da mesma forma, YAKLICH & KULIK (1979) em estudo semelhante por dois anos consecutivos, concluíram que o teste de tetrazólio foi o que mais se correlacionou com a emergência das plântulas em campo. MOTTA (1986) objetivando comparar diferentes testes de vigor, como primeira contagem do teste de germinação, teste de tetrazólio (1-3), classificação de vigor de plântulas, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica e também, relacionando-os com a emergência em campo, concluiu que o teste de tetrazólio destacou-se como o mais eficiente na classificação dos lotes de sementes de soja, de acordo com seus níveis de desempenho, quando comparados com a emergência em campo.

Por outro lado, algumas evidências indicam claramente que o teste de tetrazólio apresenta algumas limitações como, necessidade de pessoal capacitado para conduzi-lo. Os resultados são obtidos rapidamente mas há necessidade de um número de horas de trabalho por amostra superior ao teste de germinação; não permite a identificação de sementes dormentes, não indica a proporção de sementes duras na amostra, nem a presença de patógenos, não permite verificar a eficiência de um tratamento químico, nem as injúrias que este pode causar; existem, ainda, algumas dificuldades quanto à padronização de interpretação do teste (MARCOS FILHO et alii, 1987).

Segundo McDONALD Jr. (1975) a principal crítica ao teste de tetrazólio, refere-se ao fato de que as determinações realizadas são apoiadas quase que exclusivamente a julgamentos subjetivos, o que traz dificuldades para a padronização do referido teste.

Em contraposição a essa argumentação, FRANÇA NETO et alii (1988) mostram que o teste de tetrazólio é altamente eficiente na determinação dos principais fatores que comprometem a qualidade da semente, inclusive o teste pode ser empregado na caracterização de níveis de vigor para sementes de soja.

2.3. Embebição de água pelas sementes

A embebição é um tipo de difusão, provocado pela atração entre moléculas de água e o material que constitui a superfície absorvedora. A água pode se encontrar tanto no estado líquido como no de vapor, sendo absorvida pela semente em função das diferenças entre as pressões de difusão do líquido no meio exterior e no interior da semente, ou mais precisamente, através de um gradiente de energia que se estabelece na região de maior para a de menor potencial. A absorção prossegue até o momento em que os potenciais atinjam os mesmos valores, caracterizando o estado de equilíbrio (MARCOS FILHO, 1986).

Contudo, esse autor ainda acrescenta que durante a germinação, a absorção da água provoca o amolecimento do tegumento, aumento do volume do embrião e tecidos de reserva, facilitando a ruptura do tegumento, a difusão gasosa e a emergência da raiz primária. Promove também a diluição do protoplasma, permitindo a difusão de hormônios e a conseqüente ativação de sistemas enzimáticos. Com isto, desenvolvem-se os processos de digestão, translocação e assimilação das reservas, resultando no crescimento do embrião.

A literatura indica que o processo de absorção de água pelas sementes ocorre de acordo com o padrão trifásico (BEWLEY & BLACK, 1978). A fase I é extremamente rápida (1 a 2 horas) e caracterizada por intensa atividade respiratória e desdobramento de substâncias de reserva (CARVALHO & NAKAGAWA, 1988). Porém, MARCOS FILHO (1986) destaca que a embebição coloidal predomina durante o início do processo e, como independe da atividade metabólica da semente, pode ocorrer sob condições anaeróbicas, sob baixas temperaturas (em forma mais lenta) em sementes viáveis, dormentes, em tecidos vivos ou não. Por outro lado, SOUZA (1992) comenta que na fase I, também o menor potencial hídrico da semente em relação ao substrato úmido que a cerca, favorece um rápido fluxo de água no sentido substrato-semente e que a absorção

pode aumentar exponencialmente, dependendo do grau de permeabilidade do tegumento.

Todavia, a fase II é caracterizada por uma redução acentuada da velocidade de absorção de água e da intensidade da respiração. Ainda nesta fase (II) se verifica o transporte ativo das substâncias anteriormente desdobradas para o tecido meristemático, sendo que a duração desta fase é de 8 a 10 vezes mais longa que a fase I. Contudo, MARCOS FILHO (1986), destaca que a duração da fase II é variável e depende da espécie a ser estudada. As sementes de ervilha, feijão, milho, soja e alface podem permanecer em relativa pausa durante o período de até 8 a 10 vezes superior ao observado na fase I, enquanto as sementes de trigo, mamona e arroz praticamente não apresentam a fase II.

A fase III (última fase) está associada com o reinício do crescimento do embrião. As sementes novamente absorvem maiores quantidades de água e a atividade respiratória torna-se significativa. Há intensa atividade metabólica e o crescimento do eixo embrionário é visível, exigindo grandes quantidades de água, nutrientes e energia. O período de duração de cada fase é determinado por certas características das sementes, como: permeabilidade do tegumento, composição química, tamanho, etc., e das condições do ambiente predominantes durante a

embebição. Deve ser ressaltado, porém, que o início de uma nova fase não interrompe a ocorrência da anterior. Os diferentes tecidos que compõem as sementes apresentam variação quanto à capacidade de embebição de água (BURCH & DELOUCHE, 1959).

Para a soja, o período de pré-condicionamento das sementes, tem sido realizado durante 16 horas (FRANÇA NETO et alii, 1988). Entretanto, BURCH & DELOUCHE (1959), estudando a velocidade de absorção de sementes de soja, constataram que à temperatura de 20°C, as sementes atingiram o grau mínimo de umidade para início do processo germinativo nas primeiras 6h de embebição. Contudo, após 12h, 24h e 48h detectou-se que o acréscimo do grau de umidade das sementes foi mínimo.

Entretanto, McDONALD Jr et alii (1988) citados por SOUZA (1992), estudando com bastante detalhe o papel do tegumento da soja no controle de embebição, concluíram, numa fase inicial, que ele exerceu um papel retardador de absorção de água, passando posteriormente a atuar como facilitador da movimentação da água ao redor da semente, permitindo que ambos os cotilédones se hidratassem de modo uniforme. Os referidos autores sugeriram que a grande capacidade de absorção de água pelo tegumento, equivalente a 3,8 vezes o seu peso, indica que o tegumento desempenha o papel de reservatório de água para os estádios

iniciais da germinação, contribuindo para a retenção água na semente e protegendo-a de eventual dessecação após a embebição.

Por outro lado, SCHINEIDER et alii (1974) e WOLF & BAKER (1972), utilizando microscópio eletrônico de varredura em sementes de soja, observaram numerosos poros distribuídos em toda superfície do tegumento. Os poros estão relacionados com a absorção de água. Segundo os referidos autores, maior número deles parece resultar em maior velocidade de absorção de água; sendo que essa característica varia entre cultivares; contudo, PESKE & PEREIRA (1983) comentam que o tegumento das sementes de soja tem importante papel no controle de absorção de água e proteção contra microrganismos, além de funcionar como suporte mecânico. Todavia, BEWLEY & BLACK (1978;) LABOURIAU (1983;), WOODSTOCK (1983), e CARVALHO & NAKAGAWA (1988;) , citados por SOUZA (1992) comentam que o movimento de água para o interior da semente é devido tanto ao processo de capilaridade quanto à difusão e ocorre no sentido de maior para o menor potencial hídrico. Assim sendo, a embebição é essencialmente um processo físico, relacionando às características de permeabilidade do tegumento e das propriedades dos colóides que constituem as sementes e cuja hidratação é uma de suas primeiras conseqüências.

Tem sido constatado que a velocidade de embebição de água aumenta com a elevação da temperatura, isto é decorrente do aumento de pressão da difusão de água. A composição química das sementes pode também afetar a velocidade de absorção de água. Como exemplo, em sementes com alto teor protéico, a absorção é mais rápida quando comparada com sementes ricas em óleo ou mesmo amido, pois as proteínas são hidrófilas. Enquanto isto, sementes imaturas e as deterioradas apresentam maior rapidez de embebição, graças à acentuada permeabilidade do tegumento e dos sistemas de membranas celulares. A intensidade de restrição a entrada de água depende da estrutura e composição do tegumento. A variação das quantidades de lignina, suberina, tanino e lipídios, bem como a densidade e distribuição de poros do tegumento da semente podem, inclusive, impedir o processo de embebição, caracterizando uma das causas de ocorrência de sementes dormentes.

Segundo COPELAND (1976) o processo de embebição é mais rápido em altas temperaturas, embora o total do volume de água absorvida seja maior à baixa temperatura. Contudo, esse autor informa que a embebição de sementes é influenciada por vários fatores externos e internos, como temperatura, umidade e pressão osmótica, permeabilidade do tegumento da semente, composição química da semente e, finalmente, duração de exposição. Ainda

acrescenta que a absorção se verifica através das aberturas naturais no tegumento e sua difusão se dá por meio dos tecidos contidos na semente. A água provoca a turgescência das células e, em consequência, o crescimento em volume, fazendo com que o tegumento torne-se mais permeável ao oxigênio e gás carbônico.

Por outro lado, há evidências que temperaturas superiores a 30°C podem determinar uma maior intensidade de absorção de água pelas sementes. Com base neste raciocínio, HSU et alii (1983), estudando a absorção de água em sementes de soja com 20, 30 e 50°C detectaram que, à temperatura de 20°C, as sementes atingiram 90% do total de absorção em 12,5h. Porém, quando elevaram-se para 30 e 50°C, esse mesmo grau de umidade foi atingido em 6 e 2,5h, respectivamente.

De modo geral, sementes onde predominam as reservas cotiledonares atingem 35-40% de água, cerca de uma ou duas horas após o início do processo, enquanto as endospermáticas, nesse mesmo período, alcançam 25-30%.

2.4. Mecanismo de reação do tetrazólio e interpretação da coloração das sementes

DELOUCHE et alii (1976) afirmam que a solução de tetrazólio penetra imediatamente no tegumento da maioria dos cultivares de soja. Contudo, chamam a atenção para a importância do pré-condicionamento das sementes antes da colocação das mesmas na solução de tetrazólio para fins de coloração. Esses autores destacam que o pré-condicionamento é necessário por duas razões fundamentais: 1) muitas sementes expostas diretamente na solução de tetrazólio, ou mesmo em água, absorvem tanto a água como a solução tão rapidamente que chegam a provocar a ruptura do tegumento e separação dos cotilédones; 2) o pré-condicionamento melhora a qualidade e a nitidez de coloração, facilitando a interpretação durante a leitura do teste.

Enquanto isso, os referidos pesquisadores ainda afirmam que o pré-condicionamento de sementes de soja deve ser no mínimo de 6h, utilizando-se papel substrato umedecido.

Com relação ao mecanismo de reação do tetrazólio, JENSEN et alii (1951); SMITH (1951), SMITH (1952), THRONEBERRY (1952) afirmam que o sal de tetrazólio é um indicador oxidante-redutor, e já foi perfeitamente estabelecido que o desenvolvimento de uma coloração não-

difusível no tecido é o resultado da redução do produto químico pela ação enzimática. Um ou mais dos sistemas de desidrogenase parecem estar envolvido na reação. Todavia, SMITH (1952) mostra como ocorre a reação.

Cloreto de 2,3,5 - trifenil tetrazólio

Formazan

COLBRY et alii (1961) explicam que íons hidrogênio liberados dos tecidos vivos e sadios, durante o processo respiratório, normalmente se combinam com a solução de tetrazólio, proporcionando o desenvolvimento de uma coloração vermelha brilhante; já os tecidos envelhecidos, geralmente produzem coloração opaca e tecidos mortos permanecem com coloração branca.

Contudo, COPELAND et alii (1959) destacam que o pré-condicionamento antes da coloração das sementes, constitui uma das etapas críticas para a execução do teste de tetrazólio. Os autores acrescentam que uma absorção lenta de água, em temperatura controlada, é extremamente desejável e necessária para prevenir fraturas de partes do

embrião e por estimular a atividade enzimática que é um dos pré-requisitos do processo respiratório.

Enquanto isto, GRABE (1976) comenta que a cor é apenas um dos indicadores que deve ser cuidadosamente observado durante a interpretação do teste de tetrazólio. A turgescência dos tecidos, a ausência de fraturas localizadas em regiões críticas, as contusões e as lesões de insetos devem ser anotadas. Partes da semente, como um todo, são normalmente utilizadas como base para a avaliação. Basta somente uma fratura ou um ponto pequeno totalmente morto, interrompido ou omissos em uma porção vital, como o ponto de ligação do eixo-embrionário raízes e cotilédones, pode inviabilizar uma semente. O autor ainda destaca que sementes de leguminosas, freqüentemente apresentam fraturas e contusões nos hipocótilos e nos pontos de ligação dos cotilédones e hipocótilos. Os danos que envolvem pontos de crescimento ou que estejam localizados entre ou adjacências das estruturas essenciais, são mais críticos do que os danos de magnitude similar localizados em regiões mais remotas, como as extremidades dos cotilédones.

Todavia, MOORE (1985) destaca que existem três objetivos básicos para avaliação das sementes: 1) determinação do potencial de germinação do lote sob condições ideais; 2) classificação em diferentes categorias

de viabilidade para obterem-se os níveis de vigor; 3) diagnosticar as causas que provocam a redução da qualidade, as quais resultarão na perda de viabilidade. Os objetivos iniciais podem ser atingidos pela interpretação de algumas características, como condição e cor dos tecidos após a coloração e, finalmente, a posição e extensão dos danos. Segundo esse autor, a habilidade do analista em reconhecer os sintomas das diversas características provocadas por danos, torna-se imperativo para a correta interpretação das causas de perda de viabilidade.

DELOUCHE et alii (1976) afirmam que as diferentes espécies de sementes colorem em velocidades características, em uma dada temperatura e concentração da solução de tetrazólio. As sementes da mesma espécie ou até de um mesmo lote, variam na velocidade de coloração. O analista não deve esperar que todas as sementes de um determinado teste desenvolvam, ao mesmo tempo, a coloração vermelha brilhante mais desejável para interpretação. Algumas sementes colorem rapidamente; outras, lentamente. O teste deve ser concluído pela drenagem completa da solução de tetrazólio e pela lavagem em água, isto quando a intensidade média de coloração for ótima para a interpretação. As sementes que não coloriram suficientemente, devem ser recolocadas em tetrazólio, por período de tempo adicional.

Os autores ainda acrescentam que a intensidade, a profundidade e a rapidez de coloração de sementes estão intimamente relacionadas com a qualidade da semente. As sementes velhas, muito deterioradas ou mecanicamente danificadas, caracteristicamente colorem-se rápida, intensa e profundamente. Contudo, as sementes vigorosas colorem-se mais lentamente e desenvolvem uma cor vermelha brilhante e predominantemente superficial. Todavia, sementes de baixo vigor colorem-se vagorosamente e raramente adquirem uma coloração mais escura do que um leve rosado, independentemente da extensão do período de coloração.

DELOUCHE et alii (1976) afirmam que as enzimas dehidrogenases estão envolvidas na atividade respiratória dos sistemas biológicos. Durante os processos respiratórios, substâncias intermediárias são produzidas, que servem de substrato para as enzimas. Ions de hidrogênio são transferidos (em diversas etapas) para o tetrazólio, que atua como um receptor de hidrogênio. O tetrazólio é então reduzido a um "FORMAZAN" insolável e colorido (vermelho). Desde que a reação ocorre no interior da célula e o pigmento é não-difusível, há um delineamento bastante nítido entre o tecido que respira (viável) e o tecido que não respira (não-viável). O primeiro adquire uma cor

vermelha característica, enquanto o último mantém a sua cor natural.

Para GRABE (1976) a reação de coloração pode ser acelerada, realizando-se o teste em condições de alta temperatura (45°C, aproximadamente) sob condições de vácuo. Todavia DELOUCHE et alii (1976) indicam que o processo de coloração das sementes através da solução de tetrazólio, pode ocorrer tanto na temperatura ambiente como em temperatura de 40°C. Essa opção irá depender da espécie a ser testada, ou mesmo dos equipamentos disponíveis do local de trabalho.

Diversos pesquisadores afirmam que a velocidade de reação do tetrazólio é afetada por inúmeros fatores: pH (SMITH, 1952; SMITH & THRONEBERRY, 1951); temperatura (SHUEL, 1948; GRABE, 1959); pressão osmótica (METZER, 1960); e concentração da solução (SMITH, 1952).

GRABE (1959) testando os derivados de tetrazólio, como cloreto de 2, 3, 5 trifenil tetrazólio (TTC), tetrazólio vermelho (TR); cloreto de 2 - (p-indofenil - 3 - (p-nitrofenil) 5- fenil tetrazólio (INT); tetrazólio violeta (TV); neo-tetrazólio, cloreto de 2,2, - (p-difeniline) bis (3,5 difenil) tetrazólio (NT), e, tetrazólio azul (TB), constatou, com base no modo de ação desses produtos, que esses derivados variaram consideravelmente na velocidade de redução, fitotoxicidade,

agilidade de penetração no tegumento e estímulo a viabilidade. Todavia, na temperatura de 40°C, o tempo de redução do (TTC) esteve em torno de 2 horas. Por outro lado, observou-se que o NT e TB não proporcionaram coloração para sementes de soja. Esse estudo ainda revelou que ocorreu pouca fitotoxicidade no sistema radicular, quando as sementes foram submetidas ao teste normal de germinação, após serem submetidas ao condicionamento na solução de tetrazólio dos diferentes produtos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido nos laboratórios de sementes do Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ, da USP, localizada em Piracicaba, SP e do Centro Nacional de Pesquisa de Soja, da EMBRAPA, sediado em Londrina, PR. A execução da pesquisa incluindo os testes preliminares, teve início em agosto de 1990 e seu término ocorreu em agosto de 1991.

3.1. Estudo preliminar

Para a execução do estudo, em caráter preliminar, foram utilizadas sementes básicas dos cultivares BR-16, BR-30, Davis, BR-24 e BR-29, produzidas no município de Ponta Grossa, PR, na safra de 1989/90. Levando-se em consideração o tipo de estudo, cada amostra de sementes (representativa de cada lote) dos 5 cultivares, pesando ao redor de 4 kg, foi dividida com uso de um divisor cônico, em 4 subamostras de 1 kg de sementes, as quais passaram a constituir as repetições.

Todavia, os dados obtidos neste estudo não foram submetidos à análise estatística. As avaliações foram conduzidas no laboratório de sementes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ/USP, Piracicaba, SP, durante o período de agosto a outubro de 1990.

As determinações preliminares foram constituídas de 2 experimentos. No 1º experimento, sementes dos cultivares BR-16 e BR-30 foram submetidas a 6 períodos de embebição e 4 temperaturas. Para o 2º experimento avaliou-se o efeito da temperatura de 25°C durante 7 períodos de embebição de sementes dos cultivares Davis, BR-24 e BR-29, onde se tentou observar a eficácia do processo de condicionamento das sementes para a leitura do vigor (TZ 1-3) e germinação potencial (TZ 1-5). Deve-se destacar que o estudo preliminar foi planejado no sentido de utilizar apenas os cultivares BR-16 e BR-30; porém, as sementes disponíveis só permitiram a execução do 1º experimento. Diante do fato, foram empregadas sementes dos cultivares Davis, BR-24 e BR-29, cujas substituições não chegaram a comprometer as informações geradas pelo estudo.

Para a realização do 1º experimento, sementes dos cultivares BR-16 e BR-30, foram submetidas a 6 períodos de embebição (6, 8, 10, 12, 14 e 16 horas) nas temperaturas de 25°C, 30°C, 35°C e 40°C. Decorrido cada período estabelecido na respectiva temperatura, amostras (2

x 50) de sementes foram retiradas do germinador e, de imediato, pesadas e levadas a uma estufa com temperatura de 105°C durante 24 horas. Passado esse tempo o grau de umidade das sementes foi determinado, conforme metodologia descrita nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, M.A., 1980). Os resultados desse estudo foram computados em porcentagem média por cultivar.

Para a condução do 2º experimento, sementes dos cultivares Davis, BR-24 e BR-29, foram submetidas a sete períodos de embebição (4, 6, 8, 10, 12, 14 e 16 h) com a temperatura do germinador de 25°C. Passado cada período de embebição na temperatura indicada (25°C), 2 amostras de 50 sementes, correspondente a cada repetição, foram retiradas do germinador e colocadas em copinhos plásticos e, de imediato, submersas em solução de tetrazólio. Posteriormente, os copinhos foram levados a uma estufa com temperatura de 40°C (DELOUCHE et alii, 1976), onde ocorria a coloração das sementes.

Terminada essa fase, as sementes passavam por um processo de lavagem em água corrente. Em seguida, foram realizadas as respectivas leituras e a interpretação dos níveis de vigor e germinação potencial, conforme FRANÇA NETO et alii (1988).

3.2. Estudo principal

3.2.1. Cultivares Empregados

Para a realização dessa pesquisa, foram utilizadas sementes fiscalizadas dos cultivares Ocepar 4-Iguaçu, BR-16, IAS-5, BR-30 e BR-4, recomendadas para cultivo no Estado do Paraná, à exceção do cultivar BR-4, conforme indicação da OCEPAR/EMBRAPA (Recomendações Técnicas para cultura da soja no Paraná 1991/92). As sementes foram produzidas em diferentes localidades do norte do Paraná, no ano agrícola de 1990/91. Cada cultivar foi representado por 3 lotes (3 níveis de vigor), perfazendo um total de 15 lotes; esses cultivares apresentam diferentes características conforme tabela 1, e graus variados de qualidade de sementes. O período de execução da pesquisa foi de 7 meses, incluindo os levantamentos e seleção dos lotes, iniciado em fevereiro de 1991 e conclusão das coletas dos dados em agosto de 1991.

TABELA 1. Principais características dos cultivares estudados nessa pesquisa (Recomendações Técnicas para cultura da soja no Paraná 1991/92). Londrina, EMBRAPA-CNPSo, OCEPAR.

Cultivares estudadas	Cor					Qualidade Sementes	Peroxidade	Grupo de Maturação
	Hipocótilo	Flor	Vagem	Tegumento Semente	Hilo			
Davis	verde	branca	marrom clara	amarela fosca	marrom clara	sofrível	positiva	semi-precoce
BR-24	verde	branca	cinza escura	amarela clara	marrom clara	boa	positiva	precoce
BR-29	verde	branca	cinza clara	amarela brilhante	marrom clara	boa	positiva	médio
OCEPAR 4-Iguaçu	verde	branca	marrom clara	amarela clara	marrom clara	ótima	positiva	semi-precoce
BR-16	verde	branca	cinza clara	amarela semi-brilhante	marrom clara	boa	negativa	semi-precoce
IAS-5	verde	branca	marrom clara	amarela semi-brilhante	marrom clara	regular	positiva	precoce
BR-30	roxa	roxa	marrom clara	amarela brilhante	marrom	boa	positiva	médio
BR-4	verde	branca	marrom claro/amarela	semi-brilhante	marrom clara	regular dupla reação ^{1/}	dupla reação ^{1/}	semi-precoce
			marrom-esc.					

Fonte: OCEPAR (1991/92)

^{1/}Apresenta reação positiva e negativa +

3.2.2. Coleta, padronização e caracterização dos lotes de sementes em diferentes níveis de qualidade.

30 lotes de sementes dos referidos cultivares, foram coletados no setor de sementes e comercialização da Cooperativa Vale do Tibagi-VALCOOP, localizada em Londrina, PR, no período de fevereiro a março de 1991. Amostras de 5 kg de sementes (representando cada lote) foram submetidas a uma seqüência de peneiras, de chapas metálicas de crivos oblongos, com faixa de variação de 6,35 x 19,05 mm a 3,57 x 19,05 mm. Nessa avaliação inicial, verificou-se que 70% dos lotes (21 lotes) apresentavam uniformidade aceitável do tamanho de sementes, pois uma quantidade representativa de sementes permaneceu retida nas peneiras de 5,95 x 19,05 mm a 4,37 x 19,05mm. Os restantes dos lotes (9 lotes) foram descartados por não atenderem aos padrões desejados. Os demais lotes (21 amostras) foram submetidos a uma série de testes, como: germinação, envelhecimento acelerado (48h/41°C), condutividade elétrica, vigor (TZ 1-3), germinação potencial (TZ 1-5) e emergência em areia. Os dados médios de cada teste, mesmo sem análise estatística, determinaram que apenas 15 lotes apresentaram níveis de qualidade suficientemente variados, permitindo, assim, a separação

dos mesmos em diferentes níveis de vigor por cultivar, conforme valores da Tabela 2.

TABELA 2. Dados médios da qualidade fisiológica inicial de lotes de sementes dos cultivares
OCEPAR 4-Iguaçu, BR-16, IAS-5, BR-30 e BR-4. 1992.

Cultivar	Níveis de Vigor	Variáveis analisadas					
		G ¹ (%)	TZ 1-3 ² (%)	TZ 1-5 ³ (%)	E.A. ⁴ (%)	Cond. Elet. ⁵	E ⁶ (%)
Ocepar 4-Iguaçu	Alto	88,0	80,5	88,25	83,0	86,0	95,0
	Médio	73,3	60,0	75,0	63,0	67,0	73,0
	Baixo	60,0	49,0	61,0	49,0	66,0	63,0
BR-16	Alto	84,0	77,0	84,0	81,5	88,0	87,5
	Médio	62,0	66,0	69,0	64,0	73,0	70,0
	Baixo	58,0	46,5	54,0	45,0	59,0	59,0
IAS-5	Alto	82,0	80,5	83,0	81,0	95,0	87,0
	Médio	73,0	58,8	71,8	56,5	63,0	73,0
	Baixo	55,0	36,0	56,0	37,0	41,5	58,0
BR-30	Alto	82,0	73,0	85,0	77,5	78,0	87,0
	Médio	73,0	60,0	73,0	63,0	66,0	73,0
	Baixo	55,0	39,5	46,0	50,5	58,5	58,0
BR-30	Alto	93,0	78,5	91,0	90,5	91,0	94,0
	Médio	67,0	59,5	72,0	64,0	77,0	72,0
	Baixo	53,0	43,5	56,5	47,0	61,0	58,0

¹G : Teste de germinação (%)

²TZ: Teste de tetrazólio 1-3 (vigor)

³TZ: Teste de tetrazólio 1-5 (germinação potencial)

⁴E.A.: Envelhecimento acelerado

⁵Cond. Elet. : Condutividade elétrica determinada pelo ASA- 610 (%)

⁶E: Emergência (%)

3.2.3. Armazenamento das amostras

Após a classificação dos lotes em diferentes peneiras e, com a realização de diferentes testes de qualidade fisiológica, cada lote foi subdividido, através de um divisor cônico, em 4 repetições. Cada repetição de aproximadamente 1 kg de sementes, foi colocada em caixas de papelão utilizadas normalmente em laboratório de sementes. Em seguida, foi determinado o peso de 100 sementes dos 5 cultivares, conforme valores da Tabela 3. As sementes foram armazenadas no Laboratório de Tecnologia de Sementes do CNPSO-EMBRAPA, Londrina, PR, durante o período de abril a agosto de 1991. O registro diário das condições ambientais foi processado através de um termohigrógrafo. Os dados médios calculados por decêndios encontram-se na Tabela 4.

TABELA 3. Dados médios do peso de 100 sementes de 5 cultivares de soja classificada em diferentes níveis de vigor. 1992

Cultivares	Níveis de vigor		
	Alto	Médio	Baixo
OCEPAR 4-Iguaçu	15,5 ¹	14,0	13,0
BR-16	16,0	15,3	15,5
IAS-5	17,0	17,2	15,4
BR-30	14,0	13,3	11,2
BR-4	20,1	15,8	15,4

¹Dados médios, referente ao peso de 8 repetições de 100 sementes.

TABELA 4. Valores médios por decêndios referentes as temperaturas média, máxima e mínima ($^{\circ}\text{C}$) relacionados ao ambiente de armazenamento das sementes de soja. Londrina, PR, abril a agosto de 1991.

Decêndios	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)			Umidade relativa (%)
	T.média	T.máxima	T.mínima	
01 a 10/04/91	23,6	24,6	22,3	68,3
11 a 20/04/91	24,1	24,9	23,3	77,3
21 a 30/04/91	21,3	22,1	20,3	76,3
01 a 10/05/91	21,5	22,1	20,7	73,2
11 a 20/05/91	20,2	20,9	19,1	75,5
21 a 30/05/91	21,2	22,1	19,9	81,1
01 a 10/06/91	20,9	21,8	19,8	72,9
11 a 20/06/91	20,3	21,4	19,1	75,6
21 a 30/06/91	18,8	19,7	18,1	86,6
01 a 10/07/91	17,4	18,4	16,2	69,1
11 a 20/07/91	18,8	19,5	18,0	79,5
21 a 30/07/91	18,8	19,9	17,4	70,8
01 a 10/08/91	18,9	20,2	17,8	75,5
11 a 20/08/91	19,7	20,5	18,8	71,6
21 a 30/08/91	21,3	22,3	19,8	63,6

3.3. Testes executados

3.3.1. Germinação

Foi realizado com 200 sementes (4 amostras de 50 sementes) por nível de vigor. As sementes foram semeadas em rolos de papel toalha e colocadas em germinador com temperatura regulada a 25°C , durante o período de 5 dias. Para o processo de embebição, foi empregado um

volume de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel substrato. A contagem foi realizada ao 5º dia após a semeadura, seguindo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, M.A., 1980). Foram computadas as porcentagens de plântulas normais por amostra, obtendo-se assim os valores médios por nível de vigor de cada cultivar.

3.3.2. Envelhecimento acelerado

Para o teste de envelhecimento acelerado, foram utilizadas 200 sementes de cada de nível de vigor dos 5 cultivares. As sementes foram distribuídas sobre uma bandeja de tela de arame fixada no interior de um gerbox, o qual funcionava como um compartimento individual. Após a adição de 40 ml de água nos gerbox, os mesmos foram levados a um germinador, onde permaneceram sob temperatura de 41°C e umidade relativa do ar de 95%, durante 48 horas.

Passado este período, as sementes foram retiradas e, de imediato, realizado o teste de germinação, conforme os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, M.A., 1980). A avaliação das plântulas foi realizada 5 dias após a instalação da germinação, sendo computada a porcentagem de plântulas normais por amostra, obtendo-se assim os valores médios por nível de vigor de cada cultivar.

3.3.3. Emergência das plântulas em areia (casa-de-vegetação)

A avaliação da emergência das plântulas em areia foi realizada com 300 sementes por nível de vigor para os cinco cultivares. O procedimento da semeadura, consistiu no emprego de 100 sementes em caixa plástica com as dimensões de 40 x 30 x 10 cm. As caixas receberam areia de textura média, formando inicialmente uma camada de aproximadamente 10,0 cm. Em seguida, foi executada a semeadura com o auxílio de placas contadoras. De imediato, as sementes foram cobertas com uma camada de areia com aproximadamente 3,0 cm de espessura. Logo após a semeadura foram adicionados em cada caixa aproximadamente 500 ml de água para que ocorresse a germinação e emergência.

Visando a uniformidade de teor de umidade no substrato colocavam-se, a cada 2 dias, 100 ml de água, onde tomaram-se os devidos cuidados com problemas de encharcamento do substrato (FRANÇA NETO, 1989). A temperatura no interior da casa-de-vegetação durante a realização do teste, esteve ao redor de 25°C.

As contagens foram realizadas aos 15 dias após a semeadura, onde determinou-se a porcentagem de emergência. Foram computadas as plântulas que atingiram o estágio VC, ou seja, com cotilédones acima da superfície do solo e com folhas unifoliadas com margens não mais se

tocando, conforme critérios adotados por COSTA & MARCHEZAN (1982).

3.3.4. Condutividade elétrica - ASA 610

Para condução do teste foi utilizado um analisador automático, ASA-610, que mede a condutividade elétrica de solução do exudato de cada semente, estimando indiretamente a sua qualidade.

As sementes foram colocadas em bandejas de 100 células, adicionando-se água deionizada até equalizada com o prato de nivelção. Em seguida, as bandejas foram levadas a um germinador durante aproximadamente 18 horas à temperatura de 20°C. Passado este período, as bandejas foram retiradas do referido equipamento e, em seguida, processadas as leituras diretamente no painel digital do analisador. De posse dos dados impressos, fez-se o histograma correspondente à frequência de cada limite de espaço de micro-ampéres. Para a interpretação dos resultados foi observado o histograma e a população de sementes que estavam à esquerda da escala, que se caracteriza por apresentar baixa condutividade, sendo portanto, constituída por sementes viáveis. Porém, a que se encontrava à direita apresentava alta condutividade, sendo representada por sementes de baixa qualidade ou inviáveis.

Os valores médios obtidos para cada cultivar foram expressos em % (KRZYŻANOWSKI et alii, 1991).

3.3.5. Embebição e grau de umidade das sementes

Os procedimentos adotados para embebição das sementes foram, primeiramente, o pré-condicionamento em invólucro de papel de germinação, anteriormente umedecido, com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o seu peso, o qual foi acondicionado em um gerbox adaptado, com bandeja de tela de arame suspenso a 2,5 cm de altura do fundo. Na bandeja se adicionou 50 ml de água, objetivando manter uniforme a umidade relativa no interior dos gerbox, que eram então fechados e colocados em germinadores previamente calibrados, à temperatura de 35°C e 42°C.

Para a determinação da umidade utilizou-se uma estufa termoelétrica regulada a 105°C por 24 horas, conforme os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, M.A. 1980). Idêntico procedimento foi usado para testemunha (16 h/25°C). Essas análises foram conduzidas antes da execução dos testes de germinação, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, emergência e tetrazólio.

Por outro lado, foi também avaliado o grau de umidade das sementes secas dos 5 cultivares, sendo que

os resultados estão expressos em porcentagem média, por nível de vigor e cultivar, conforme a Tabela 5.

TABELA 5. Graus de umidade (%) das sementes secas de 5 cultivares de soja classificadas em diferentes níveis de vigor. 1992

Cultivares	Níveis de vigor		
	Alto	Médio	Baixo
Ocepar 4-Iguaçu	11,0 ¹	10,8	10,8
BR-16	10,3	11,0	9,8
IAS-5	12,1	11,7	11,7
BR-30	10,5	10,9	10,0
BR-4	11,5	11,8	11,0

¹Médias de 4 repetições.

3.3.6. Amostragem, pré-condicionamento e coloração das sementes

As amostras de trabalho foram coletadas conforme prescrevem as Regras para Análise de Sementes (Brasil, M.A. 1980). Utilizaram-se 100 sementes (2 repetições com 50 sementes) para cada lote. As sementes foram embebidas em papel toalha e colocadas em gerbox pelos períodos de 4h, 6h, 8h e 10h às temperaturas de 35°C e 42°C, no interior de um germinador. Com o término de cada

período, as amostras eram retiradas e, de imediato, colocadas em copinhos de plástico de 50 ml com solução de tetrazólio na concentração de 0,075%, em estufa termoelétrica com temperatura de 40°C durante 2h aproximadamente. (DELOUCHE, et alii 1976).

Para preparo da solução, foi utilizado o cloreto 2,3,5 trifenil de tetrazólio. Primeiramente foi preparada a solução estoque na concentração de 1%. Em tal processo foram misturadas 10 gramas de sal de tetrazólio em 1 litro de água. Por outro lado, a solução de tetrazólio foi obtida com a diluição da solução estoque (1%) para a concentração de 0,075%. O critério empregado para o preparo nessa concentração foi da seguinte maneira:

75 ml de solução (1%) + 925 ml de H₂O = 1 litro de solução a 0,075%.

O armazenamento da solução em ambas as concentrações foi realizado em frascos de cor âmbar, colocados em locais escuros e com boa circulação de ar.

3.3.7. Avaliação e interpretação das sementes após o processo de coloração no tetrazólio

As sementes foram avaliadas uma a uma, onde seccionou-se longitudinalmente com o auxílio de uma lâmina de barbear, observando-se a ocorrência dos danos (mecânicos, de secagem e por percevejo e deterioração por

"umidade") nas partes externas e internas dos cotilédones, sendo dada atenção especial ao eixo embrionário (Fig.1). Durante a leitura das sementes foi observado, detalhadamente, se a ocorrência de determinado dano era superficial, atingindo apenas o córtex, ou se afetava o cilindro central (Fig. 2). Deve-se levar em consideração que, normalmente, a parte interna dos cotilédones apresenta-se descolorida (branca).

A determinação da viabilidade e do vigor foi realizada através da classificação de cada semente em uma das 8 categorias, adaptados de FRANÇA NETO et alii (1988), conforme descrito a seguir:

Classe 1. Todas as estruturas estão intactas, coloração uniforme e superficial indicando uma penetração lenta da solução de tetrazólio. A superfície interna dos cotilédones estão coloridas apenas nos bordos. Todos os tecidos do embrião estão normais e túrgidos. (Figura 3 - classe 1).

Classe 2. Dano(s) devido(s) à picada de percevejo, com uma área total não maior do que a mostrada na ilustração da Figura 5 - classe 2, com profundidade máxima de 0,5 mm. A localização deve ser afastada da região vascular. A região afastada apresenta-se mais ou menos necrosada (tecido morto, coloração esbranquiçada de aspecto pulverulento, às vezes com o sinal de punctura bem visível,

outras vezes não). Superfície interna dos cotilédones conforme foi caracterizado na Figura 3 - classe 1.

Classe 3. Estrias superficiais de coloração vermelho carmim forte ou áreas brancas estão presentes na superfície externa dos cotilédones ou danos superficiais no córtex do eixo radicular-hipocótilo, mas não alcançando o cilindro central. Em ambas as figuras a superfície interna da semente pode apresentar pequenas áreas mais escuras correspondentes às estrias externas e com uma espessura máxima de 0,5 mm. (Fig. 6).

Classe 4. Áreas de coloração vermelho-carmim forte (tecido em estágio avançado de deterioração) ou branco-leitoso (tecido morto). Os danos são visíveis na superfície interna dos cotilédones. O cilindro central apresenta-se intacto. (Fig. 8 e 9).

Classe 5. Os cotilédones estão danificados severamente, mas 50% ou mais do tecido de reserva estão viáveis e funcionais. A região vascular próxima ao ponto de ligação entre o eixo embrionário está bem definida e viável. Sementes classificadas nesta classe, germinarão e produzirão plântulas normais somente sob condições ideais (Fig. 10).

As sementes classificadas nas categorias de 1 a 3 são vigorosas, viáveis e, geralmente, têm germinação

e emergência rápida e uniforme. Contudo, as das classes 4 a 5 são consideradas viáveis, porém, não vigorosas.

Classe 6. Essa classe é caracterizada pela presença de lesões semelhantes às da categoria cinco, mas a quantidade de tecido danificado é grande, tornando a semente não viável (Fig. 11).

Classe 7. Dano profundo no cilindro central. A região vascular entre o eixo embrionário e os cotilédones está severamente danificada. A plúmula pode apresentar danos. Mais de 50% do tecido de reserva está totalmente deteriorado (Fig. 12 e 13).

Classe 8. Todas as estruturas do embrião estão mortas, com os tecidos flácidos e quebradiços (Fig. 14).

A informação dos resultados do teste de tetrazólio é bastante detalhada, pois cada semente foi analisada e classificada em determinado nível, que geralmente varia de 1 a 8. Após essa avaliação, registraram-se, em uma ficha especial destinada para anotação dos níveis de vigor, de viabilidade e a identificação do(s) tipos que possa(m) ter determinado o referido nível. A somatória dos percentuais das classes 1 a 3 forneceu um índice de vigor e a somatória dos valores das classes 1 a 5 indicou a viabilidade do lote de sementes. (FRANÇA NETO et alii. (1988).

A diagnose da perda de qualidade foi obtida através da informação nas classes 6 a 8, onde anotaram-se as causas da perda (percevejo, "umidade" e dano mecânico), e destacou-se a razão principal, que então foi computada porcentualmente na classe devida, a qual permitiu uma interpretação apurada das causas.

Para fins de ilustração, apresentamos um exemplo hipotético de um esquema de avaliação do teste de tetrazólio semelhante ao utilizado neste trabalho, conforme descrito na ficha a seguir.

Uma síntese das 8 classes adaptado de FRANÇA NETO et alii (1988) foi esquematizada através das figuras de 3 a 14.

EMBRAPA	FICHA DE AVALIAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO
--	--

AMOSTRA:	LOCAL: Londrina, PR
Nº DE SEMENTES TESTADAS: 100	CONC. DA SOLUÇÃO: 0,075
DATA: 03/12/92	ANALISTA:

1. XXXXX XXXXX XXXXX ///// ///// ///// ///// ///// ///// /////	30
2. PPPLP PPPPP L/PP/ ///// ///// ///// ///// ///// ///// /////	30
3. PP/PP PPLLP ///// ///// ///// ///// ///// ///// /////	20
4. PL/PI ///// ///// ///// ///// ///// ///// /////	08
5. PPII ///// ///// ///// ///// ///// ///// /////	04
S.D. ///// ///// ///// ///// ///// /////	
6. ///// ///// ///// ///// ///// ///// /////	
7. P/PLP ///// ///// ///// ///// ///// /////	08
8. ///// ///// ///// ///// ///// /////	
Nível de Vigor 1-3: 80 Potencial de Germinação: 92	

1. XXXXX XXXXX XXXXX X///// ///// ///// ///// ///// /////	32
2. P/PLP PPPPP L/PLP ///// ///// ///// ///// /////	30
3. L/PPP PL/PLP ///// ///// ///// ///// /////	20
4. P/PLP ///// ///// ///// ///// /////	08
5. ///// ///// ///// ///// /////	
S.D. ///// ///// ///// /////	
6. ///// ///// ///// /////	
7. P/PLP ///// /////	10
8. ///// /////	
Nível de Vigor 1-3: 82 Potencial de Germinação: 90	

REPETIÇÕES	DANO MECÂNICO		UMIDADE		PERCEVEJO		DURAS	VIGOR	P.G.
	1 - 8	6 - 8	1 - 8	6 - 8	1 - 8	6 - 8			
I	18	02	48	04	10	02	-	80	92
II	22	04	40	04	16	02	-	82	90
MÉDIAS	20	03	44	04	13	02	-	81	91

FIG. 1. Corte longitudinal de uma semente de soja, mostrando suas estruturas embrionárias.
Fonte: FRANÇA NETO et alii. (1988).

FIG. 2. Corte longitudinal de duas sementes de soja, mostrando a ocorrência de danos no eixo radícula-hipocótilo.
Fonte: FRANÇA NETO et alii. (1988).

FIG. 3. Classe 1. Todas as estruturas do embrião estão intactas. Coloração uniforme e superficial indicando uma penetração lenta da solução de tetrazólio. A superfície interna dos cotilédones está colorida apenas nos bordos. Todos os tecidos do embrião estão normais e túrgidos.

Fonte: FRANÇA NETO et alii. (1988)

FIG. 4. Classe 1. Semente com aspecto de mosaico devido a um processo lento de embebição; os tecidos se apresentam firmes e na face interna dos cotilédones geralmente aparece uma cavidade central de coloração amarelada, indicando insuficiente absorção de água.

Fonte: FRANÇA NETO et alii. (1988)

FIG. 5. Classe 2. Dano(s) devido(s) à picada de percevejo, com uma área total não maior do que a mostrada na ilustração e profundidade máxima de 0,5 mm. A localização deve ser afastada da região vascular. A região afetada apresenta-se mais ou menos necrosada (tecido morto, coloração esbranquiçada, de aspecto pulverulento, às vezes com o sinal de punctura bem visível, outras vezes não). Superfície interna dos cotilédones como caracterizado na figura 3.
Fonte: FRANÇA NETO et alii. (1988)

FIG. 6. Classe 3. Estrias pequenas e superficiais ocorrendo na superfície externa dos cotilédones. Uma semente desta classe indica pequenos sinais de deterioração por "umidade".
Fonte: FRANÇA NETO et alii. (1988)

FIG. 7. Classe 3. Dano ocasionado por "umidade", mas a faixa pode ser de tecido de coloração branco-leitoso (tecido morto), numa área não maior do que a da ilustração. Superfície interna com uma faixa de tecido morto numa espessura máxima de 0,5 mm.

Fonte: FRANÇA NETO et alii. (1988)

FIG. 8. Classe 4. Área de coloração vermelho-carmim, forte em ambos os cotilédones, cobrindo menos do que a metade dos mesmos. A superfície interna também apresenta área de coloração vermelho-carmim forte. A região vascular, porém, não deve estar afetada.

Fonte: FRANÇA NETO et alii. (1988)

FIG. 9. Classe 4. Área de tecido morto menor do que a metade da área total dos cotilédones.
Fonte: FRANÇA NETO et alii. (1988)

FIG. 10. Classe 5. Dano(s) devido(s) à picada de percevejo, afetando a região do ponto de ligação de um dos cotilédones e lesionando, parcial e internamente a área correspondente do segundo cotilédone.
Fonte: FRANÇA NETO et alii. (1988)

FIG. 11. Classe 6. Esta classe é caracterizada pela presença de lesões proporcionadas por "umidade". A quantidade de tecido deteriorado é grande, tornando a semente não viável.
Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988)

FIG. 12. Classe 7. Fratura do eixo embrionário, secionando o cilindro central, tornando a semente inviável.
FONTE FRANÇA NETO et alii. (1988)

FIG. 13. Classe 7. Plúmula com coloração vermelho carmim forte (deteriorada), não tendo as mínimas condições de germinação.
Fonte: FRANÇA NETO et alii. (1988)

FIG. 14. Classe 8. Sementes apresentando as estruturas do embrião totalmente mortas, com os tecidos flácidos e completamente deteriorados.
Fonte: FRANÇA NETO et alii (1988)

3.3.8. Análise estatística

Para atingir os objetivos do trabalho e simplificar a discussão dos resultados optou-se pelo delineamento em blocos ao acaso com os tratamentos em esquema fatorial com 4 repetições, conforme esquema contido na Tabela 6. Os tratamentos estudados foram 3 níveis de vigor (baixo, médio e alto) e 9 combinações de período de embebição e temperaturas como seguem:

T1 - 4 horas e 42°C

T2 - 4 horas e 35°C

T3 - 6 horas e 42°C

T4 - 6 horas e 35°C

T5 - 8 horas e 42°C

T6 - 8 horas e 35°C

T7 - 10 horas e 42°C

T8 - 10 horas e 35°C

T9 - 16 horas e 25°C

Para cada cultivar foi considerado um experimento seguindo o delineamento citado anteriormente. Este procedimento foi adotado para facilitar este estudo, considerando que era limitado o número de germinadores para a condução do trabalho.

TABELA 6. Esquema de análise de variância para cada cultivar, com os dados obtidos nos testes de laboratório.

Causas de variação	Graus de liberdade
Blocos	03
Vigor	02
Tratamentos (períodos de emb. x temperatura)	08
Vigor x Tratamento	16
Resíduo	78
T O T A L	107

A comparação múltipla de médias foi realizada pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Foram realizadas as análises de correlação com os dados médios, entre todas as variáveis estudadas. A significância do coeficiente de correlação (r) foi determinada pelo teste t ao nível de 5%.

Os cálculos da análise estatística foram realizados com o uso do Sistema de Análise Estatística (SANEST) para micro-computadores (ZONTA et alii, 1984).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Testes preliminares

Os dados referentes ao 1º experimento, apontaram (Figura 15) que o fator temperatura teve efeito marcante no processo de embebição de água pelas sementes. Os cultivares BR-30 e BR-16 apresentaram intensidade bastante expressiva de absorção de água, quando se utilizou a temperatura de 40°C. No período de 6h/40°C as sementes dos referidos cultivares atingiram graus de umidade superiores a 31%, o que certamente proporciona o desenvolvimento de uma coloração razoável através do teste de tetrazólio. Porém, na temperatura de 35°C, apenas o cultivar BR-30 mostrou comportamento consistente em termos de absorção de água, chegando atingir 30,5%. Todavia, nos períodos de 8h/40°C, os graus de umidade das sementes dos respectivos cultivares, variaram entre 34 a 37,5%.

Por outro lado, observou-se que as sementes dos citados cultivares, quando submetidas a 6h e 8h de embebição nas temperaturas de 25°C e 30°C, os graus de umidade ficaram situados entre 25% e 29%. Nessa faixa de umidade, normalmente, pode ocorrer um número significativo de sementes com alterações morfológicas (sementes ocas) e

muitas delas com características de mosaico (Figura 4), chegando a comprometer as leituras e interpretação do vigor e germinação potencial (TZ 1-3 e 1-5). Estas informações, embora em caráter preliminar, mostram que cuidados especiais devem ser tomados quando do emprego desses tratamentos, visando o condicionamento de sementes de soja no teste de tetrazólio.

Os resultados evidenciaram que temperaturas superiores a 35°C aceleram o processo de absorção de água pelas sementes, podendo reduzir sensivelmente o período de condicionamento para a realização do teste de tetrazólio. Apesar do número limitado de estudos nessa área, alguns deles têm indicado a importância da temperatura durante o processo de embebição das sementes. BURCH & DELOUCHE (1959), COPELAND (1976), HSU et alii (1983), afirmaram que a velocidade de embebição de água pelas sementes, aumenta com a elevação da temperatura, sendo que isto é decorrente do aumento de pressão de difusão da água. Acrescentam, também, que a água provoca a turgescência das células e, em consequência, o crescimento em volume, fazendo com que o tegumento torne-se mais permeável.

Os dados médios de vigor (TZ 1-3) e germinação potencial (TZ 1-5) correspondente ao 2º experimento, indicaram (Figuras 16 e 17) que o período de

4h/25°C mostrou-se totalmente impróprio visando o pré-condicionamento de sementes dos cultivares Davis, BR-24 e BR-29. Por sua vez, os períodos de 6h/25°C e 8h/25°C tiveram comportamento variável em função da coloração das sementes, tendo-se verificado um número expressivo de sementes com desuniformidade de coloração e, muitas delas, apresentando características de mosaico. Esta situação proporcionou dificuldades de visualização dos níveis de vigor e de interpretação correta no momento de leitura do teste.

Os dados ainda revelaram que os períodos de 10h, 12h, 14h e 16h de embebição na temperatura de 25°C, não apresentaram limitações de leituras tanto para níveis de vigor (TZ 1-3) como para germinação potencial (TZ 1-5) para os 3 cultivares em estudo. Esses dados, apesar de não terem sido analisados estatisticamente, permitiram diagnosticar que temperaturas superiores a 25°C, poderiam ser altamente promissoras objetivando o dimensionamento para realização do teste de tetrazólio.

Com relação aos cultivares, ficou elucidado através dos dados, que sementes do cultivar Davis, apresentaram elevado porcentual de sementes com características de mosaico (Figura 4), especialmente, quando se utilizou 4h, 6h ou 8h na temperatura de 25°C. Essa situação, normalmente, traz dificuldades de

interpretação, especialmente na caracterização de danos mecânicos e deterioração por "umidade".

Os valores de deterioração por "umidade" (TZ 6-8) apresentados na Tabela 7, mostraram que os períodos de 4h e 6h de embebição proporcionaram níveis bastante elevados de sementes com sinais de deterioração, especialmente o cultivar Davis, isto quando se relacionou com 8h, 10h, 12h, 14h e 16h de embebição. Essa situação de condicionamento, geralmente não proporciona condições de embebição adequada, pois além de alterações morfológicas (sementes ocas) ocorreram valores elevados de sementes com características de mosaico, prejudicando drasticamente a leitura do vigor (TZ 1-3).

Contudo, VEIGA (1988) argumentou que a maior permeabilidade à água ou a solução de tetrazólio apresentada pelos tratamentos com maior duração ao condicionamento estaria relacionada com a recomposição do sistema de membranas, que teria maior espaço de tempo para ocorrer ao período de 16h. Por outro lado, analisando-se os valores da Tabela 7, observou-se que os percentuais de danos mecânicos foram altos para sementes do cultivar Davis quando submetidas a 4h, 6h e 8h horas de embebição na temperatura de 25°C. Essa mesma tendência ocorreu para 4 e 6h para sementes dos cultivares BR-24 e BR-29, quando

TABELA 7. Resultados de deterioração por "umidade", danos mecânicos e lesões de percevejos sugadores, fornecidos pelo teste de tetrazólio, de sementes dos cultivares Davis, BR-24 e BR-29, submetidas a 7 períodos de embebição na temperatura de 25°C, correspondente ao teste preliminar do 2º experimento. 1992.

Períodos de Embebição (horas)	Cultivares								
	Davis			BR-24			BR-29		
	Det. ¹	D.M. ²	Percev. ³	Det. ¹	D.M. ²	Percev. ³	Det. ¹	D.M. ²	Percev. ³
	"umidade"			"umidade"			"umidade"		
4	23	8,0	7,0	20	7,5	6,0	18	7,0	6,0
6	28	7,5	7,5	16	6,0	4,0	17	5,0	5,0
8	11	6,5	7,0	10	5,0	4,0	12	5,0	5,0
10	09	5,0	6,0	08	5,0	3,0	10	4,0	5,0
12	10	4,0	3,0	08	4,0	2,0	6,0	3,0	4,0
14	05	3,0	3,0	05	3,0	2,0	5,0	3,0	3,0
16	11	2,5	3,0	04	2,0	2,0	4,0	3,0	3,0

¹Det. "Umidade" = deterioração por umidade (tetrazólio 6-8)

²D.M. = danos mecânicos (tetrazólio 6-8)

³Percev. = percevejos (tetrazólio 6-8)

comparado com a testemunha (16h/25°C). A constatação pode ser atribuída aos problemas de embebição das sementes quando se emprega temperatura de 25°C. Nessa situação, pode ocorrer o desenvolvimento de fendas profundas no sentido transversal dos cotilédones semelhantes a danos mecânicos.

Por sua vez, a identificação de lesões nas sementes provocadas por percevejos sugadores também apresentaram limitações de leitura. A presença de sementes com essas características seguramente acarretará erros de interpretação durante a execução do teste de tetrazólio.

EMBEBIÇÃO A 25 GRAUS CELSIUS

EMBEBIÇÃO A 30 GRAUS CELSIUS

EMBEBIÇÃO A 35 GRAUS CELSIUS

EMBEBIÇÃO A 40 GRAUS CELSIUS

FIGURA 15. Resultados de graus de umidade (%) das sementes dos cultivares BR-16 e BR-30, submetidos a 6 períodos de embebição e 4 temperaturas, correspondentes ao teste preliminar do 1º experimento. 1992.

FIGURA 16. Resultados de vigor (tetrazólio 1-3) de sementes dos cultivares Davis, BR-29 e BR-24, submetidas a 7 períodos de embebição à temperatura de 25°C, correspondentes ao teste preliminar do 2º experimento. 1992.

FIGURA 17. Resultados de germinação potencial (tetrazólio 1-5) de sementes dos cultivares Davis, BR-29 e BR-24, submetidas a 7 períodos de embebição à temperatura de 25°C, correspondentes ao teste preliminar do 2º experimento. 1992.

4.2. Estudo principal

Os resultados das análises da variância dos dados obtidos nos testes de tetrazólio, considerando os diferentes aspectos de sua avaliação (vigor: TZ 1-3; germinação potencial: TZ 1-5; deterioração por "umidade", danos mecânicos ou danos de percevejos: (TZ 6-8), encontram-se nas Tabelas 8 e 9.

Pode-se verificar que foram obtidos valores de F significativos para os efeitos de níveis de vigor, tratamentos (combinações entre temperaturas e períodos de embebição) e interação níveis de vigor x tratamentos sobre os parâmetros TZ 1-3 e TZ 1-5; esta interação não foi significativa na análise dos dados de grau de umidade das sementes dos 5 cultivares estudados.

Por outro lado, nas análises dos dados obtidos nas avaliações TZ 6-8, verificaram-se, de um modo geral, efeitos significativos para efeitos de níveis de vigor e de tratamentos.

A interação entre essas causas de variação foi significativa, para os 5 cultivares, à exceção do cultivar IAS-5, nas análises dos dados de deterioração por "umidade". Isto, porém, ocorreu com baixa frequência para os dados de danos por percevejos, apenas para o cultivar BR-4. Para danos mecânicos não se constatou interação significativa para nenhum cultivar.

Na exposição dos resultados, visando a padronização do modelo das tabelas, foi evitada a apresentação das médias dos efeitos simples de tratamentos e de níveis de vigor, optando-se pelas médias da interação, mesmo nos casos em que não foi significativa.

TABELA 8. Valores de quadrados médios (QM) referentes às análises de variância dos testes de vigor (TZ 1-3), germinação potencial (TZ 1-5) e grau de umidade das sementes para os diferentes tratamentos correspondentes a 5 cultivares. 1992.

Tetrazólio (vigor 1-3)						
Causas de variação	GL	Q M				
		Iguaçu	BR-16	IAS-5	BR-30	BR-4
Vigor	2	5690,50*	7476,58*	14319,17*	8986,17*	7875,44*
Trats	8	234,95*	1188,79*	1070,40*	248,69*	1371,70*
Vigor x Trats	16	31,37*	58,88*	80,29*	18,17*	145,69*
Resíduo	78	4,09	2,59	2,19	3,19	4,03
Tetrazólio (germ. potencial 1-5)						
Vigor	2	7944,69*	6584,45*	7058,26*	12204,86*	7691,69*
Trats	8	136,44*	446,18*	285,93*	244,88*	634,08*
Vigor x Trats	16	22,60*	15,13*	39,77*	23,22*	35,13*
Resíduo	78	4,68	5,20	6,21	8,24	8,59
grau de umidade das sementes						
Vigor	2	15,95*	5,12*	1,15 ^{ns}	1,58 ^{ns}	4,62*
Trats	8	239,54*	302,04*	220,71*	298,42*	208,65*
Vigor x Trats	16	1,30 ^{ns}	1,18 ^{ns}	0,69 ^{ns}	0,91 ^{ns}	0,89 ^{ns}
Resíduo	78					

^{ns} Não significativo

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 9. Valores de quadrados médios (QM) referentes às análises de variância dos testes de deterioração por "umidade" aparente (TZ 6-8), dano mecânico (TZ 6-8) e dano de percevejo (TZ 6-8) das sementes para os diferentes tratamentos correspondentes a 5 cultivares. 1992.

Tetrazólio - deterioração por "umidade" (6-8)

Causas de variação	GL	----- Q M -----				
		Iguaçu	BR-16	IAS-5	BR-30	BR-4
Vigor	2	1619,79*	2713,48*	24437,19*	513,53*	143,44*
Trats	8	229,36*	683,80*	80,88*	317,04*	920,31*
Vigor x Trats	16	39,26*	66,88*	2,70 ^{ns}	19,30*	31,58*
Resíduo	78	2,80	6,40	1,77	6,16	8,06

Tetrazólio - dano mecânico (6-8)

Vigor	2	4000 ^{ns}	29,73*	89,51*	45,86*	0,90 ^{ns}
Trats	8	7708 ^{ns}	7,39*	7,09 ^{ns}	4,83 ^{ns}	7,41*
Vigor x Trats	16	3500 ^{ns}	1,71 ^{ns}	3,60 ^{ns}	1,05 ^{ns}	2,39 ^{ns}
Resíduo	78	3989	2,89	4,18	3,54	2,99

Tetrazólio - dano de percevejo (6-8)

Vigor	2	1788,45*	1439,62*	2109,01*	3642,79*	4064,12*
Trats	8	16,12*	13,14*	12,91*	40,54*	34,56*
Vigor x Trats	16	6,75 ^{ns}	9,60 ^{ns}	3,09 ^{ns}	9,89 ^{ns}	13,47*
Resíduo	78	6,43	6,15	2,87	9,12	6,99

ns

Não significativo

*

Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.1. Cultivar OCEPAR 4-Iguaçu

Os resultados apresentados na Tabela 10, indicaram que o período de 4h de embebição, tanto a 42°C como a 35°C, não proporcionou condicionamento adequado às sementes, com reflexos diretos na interpretação do teste de vigor (TZ 1-3), independentemente do nível de vigor das sementes avaliadas. Porém, os períodos superiores a 6h, principalmente a 42°C, permitiram a coloração adequada das sementes e a obtenção de médias estatisticamente semelhantes às da testemunha; a embebição durante 6h proporcionou bons resultados apenas para as sementes consideradas de médio ou de baixo vigor. Por outro lado, quando a embebição foi realizada a 35°C, apenas o período de 10h apresentou médias semelhantes à da testemunha.

A Tabela 11 contém as médias referentes à germinação potencial (TZ 1-5). Verifica-se que todos os períodos de embebição a 42°C, conduziram à obtenção de resultados semelhantes aos da testemunha, para sementes de alto e médio vigor. Nesses mesmos níveis de vigor, foram necessárias 10h de embebição, a 35°C, para que a coloração se mostrasse suficientemente nítida e uniforme para a interpretação segura do teste; o mesmo período de embebição foi significativa para as sementes de baixo vigor embebidas a 42°C.

TABELA 10. Valores de vigor (TZ 1-3) de sementes de soja do cultivar Ocepar 4- Iguaçu, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	OCEPAR 4-Iguaçu		
		Tetrazólio (vigor 1-3) %		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	80,5 a ¹	60,0 a	49,8 a
42	10	79,0 a	60,0 a	49,5 a
42	8	77,8 ab	57,5 ab	49,0 a
42	6	72,0 c	57,5 ab	48,8 a
42	4	61,8 de	53,0 cd	46,8 ab
35	10	75,0 bc	58,0 ab	48,0 a
35	8	74,5 bc	55,0 bcd	48,0 a
35	6	65,8 d	53,0 cd	42,5 bc
35	4	61,0 e	51,0 d	41,0 c
Coef. Variação = 3,2 %				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 11. Valores de germinação potencial (TZ 1-5) de sementes de soja do cultivar Ocepar 4-Iguaçu, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	OCEPAR 4-Iguaçu		
		Tetrazólio (germinação potencial 1-5) %		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	88,25 a ¹	75,00 a	61,00 a
42	10	87,25 ab	75,00 a	57,00 ab
42	8	88,25 a	74,00 a	56,00 b
42	6	86,00 abc	73,50 a	55,00 b
42	4	86,00 abc	62,50 d	52,75 b
35	10	87,00 ab	73,00 a	55,75 b
35	8	82,00 bcd	68,00 bc	55,75 b
35	6	81,50 cd	64,75 cd	55,00 b
35	4	81,00 d	60,00 d	52,50 b
Coef. Variação = 3,1%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Quanto à deterioração por "umidade", observa-se na Tabela 12 que a ocorrência de sementes deterioradas foi extremamente elevada, para os períodos de 4h de embebição, tanto a 35°C como a 42°C. Essa situação acarretou sérios problemas de interpretação da leitura do teste, devido a alterações morfológicas (sementes ocas ao

nível dos cotilédones), e presença de sementes de coloração totalmente desuniforme em todas as dimensões dos cotilédones e do próprio eixo embrionário. A razão do surgimento dessas características, pode ser atribuída ao menor tempo de embebição à água ou mesmo à solução de tetrazólio com menores períodos de embebição, não permitindo pré-condicionamento adequado como se verifica para no período de 16h (VEIGA, 1988). Ainda com relação à abordagem efetuada por CARVALHO & NAKAGAWA (1988), é possível que sementes embebidas durante 4h, 6h e 16h, ainda se encontrem na fase II, sendo que este estágio é caracterizado pelo transporte de substâncias para os tecidos meristemáticos. Segundo esses autores, a reorganização em substâncias mais complexas somente ocorreria na fase III, que tem início após 15h a 20h de embebição.

No entanto, o pré-condicionamento por períodos de, pelo menos, 8h a 35°C ou 42°C, propiciou a obtenção de resultados comparáveis aos da testemunha, quando se consideram as sementes de alto e de médio vigor. Por outro lado, a redução do período de embebição, em ambas as temperaturas, permitiu a leitura suficientemente precisa da ocorrência de sementes com sintomas de danos mecânicos e de lesões de percevejos (Tabelas 13 e 14), não se observando diferenças significativas entre os tratamentos.

TABELA 12. Valores de deterioração por "umidade" (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar Ocepar 4-Iguaçu, com 3 níveis de vigor após 5 período de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	OCEPAR 4-Iguaçu		
		Tetrazólio (deterioração por "umidade" 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	3,5 d ¹	13,0 d	13,2 d
42	10	3,5 d	12,8 d	17,2 cd
42	08	4,5 d	16,0 cd	19,2 c
42	06	8,0 cd	19,0 ab	27,2 b
42	04	14,0 b	25,2 a	45,8 a
35	10	5,0 d	12,0 d	20,0 c
35	08	5,2 d	16,8 cd	20,0 c
35	06	11,8 bc	23,0 ab	26,2 b
35	04	22,0 a	25,8 a	44,5 a
Coef. de variação = 17,3%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 13. Valores de danos mecânicos de (TZ 6-8) de sementes de soja de cultivar Ocepar 4-Iguaçu com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	OCEPAR 4-Iguaçu		
		Tetrazólio (dano mecânico 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	5,5 a ¹	4,5 a	5,8 ab
42	10	5,0 a	4,8 a	3,0 b
42	08	5,0 a	5,2 a	5,2 ab
42	06	5,8 a	5,0 a	5,8 ab
42	04	7,0 a	4,8 a	5,5 ab
35	10	5,5 a	6,2 a	4,2 ab
35	08	5,0 a	5,8 a	6,0 ab
35	06	6,2 a	6,2 a	6,8 ab
35	04	8,0 a	6,5 a	8,0 a
Coef. de variação = 36,6%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferiram entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 14. Valores de danos de percevejos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar Ocepar 4-Iguaçu, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	OCEPAR 4-Iguaçu		
		Tetrazólio (dano de percevejo TZ 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	4,3 a ¹	12,8 b	18,5 a
42	10	3,8 a	15,8 ab	14,8 a
42	08	4,5 a	18,3 ab	16,0 a
42	06	5,0 a	17,8 ab	16,5 a
42	04	5,3 a	17,3 ab	16,5 a
35	10	4,3 a	15,5 ab	18,8 a
35	08	6,3 a	18,0 ab	19,0 a
35	06	6,0 a	19,0 a	19,5 a
35	04	6,3 a	18,0 ab	18,8 a
Coef. de variação = 19,23%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferiram entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Quanto ao grau de umidade das sementes, os resultados (Tabela 15) evidenciaram que após o pré-condicionamento durante 10h, tanto a 35°C como a 42°C, os valores não diferiram acentuadamente da testemunha. Contudo, para 4h de embebição chegou-se a uma faixa de absorção entre 24,5 a 27%, sendo que a 42°C houve uma intensidade de absorção de água ligeiramente superior à verificada para a temperatura de 35°C.

Constatou-se também que após 6h de embebição as sementes atingiram graus de umidade entre 30,0 a 34,5 para os três níveis de vigor. Observando-se os valores de vigor (TZ 1-3) e de germinação potencial (TZ 1-5) nota-se que, a partir de 6h de embebição à temperatura de 42°C, as sementes de médio e de alto vigor desenvolveram coloração adequada para a leitura do teste.

Alguns trabalhos têm indicado que temperaturas superiores a 30°C, podem determinar uma maior intensidade de absorção de água pelas sementes. Com base nesse raciocínio, HSU et alii (1983), estudando a absorção de água em sementes de soja, a 20, 30 e 50°C, observaram que à temperatura de 20°C as sementes atingiram 90% do total de absorção em 12,5h; porém, quando a temperatura foi elevada para 30°C e 50°C, esse grau de umidade foi atingido em 6h e 2,5h, respectivamente. Pelo visto, pode-se argumentar que a temperatura é um elemento fundamental no

processo de condicionamento de sementes de soja, especialmente quando o objetivo é a obtenção de coloração uniforme no teste de tetrazólio.

TABELA 15. Valores de graus de umidade (%) de sementes de soja do cultivar Ocepar 4-Iguaçu, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	OCEPAR 4-Iguaçu		
		Graus de umidade das sementes (%)		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	38,0 a ¹	38,0 a	38,8 a
42	10	37,8 a	37,8 a	38,0 a
42	08	34,8 b	36,0 ab	35,8 b
42	06	31,5 bc	33,0 cd	34,5 bc
42	04	27,0 e	28,5 e	27,8 d
35	10	35,0 b	36,8 ab	35,8 b
35	08	33,5 bc	35,0 bc	34,5 bc
35	06	30,0 d	32,0 d	34,5 c
35	04	24,5 f	25,0 f	25,5 e

Coef. de variação = 2,97%

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferiram entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.2. Cultivar BR-16

Os resultados contidos na Tabela 16 mostram que sementes do cultivar BR-16, quando foram submetidas aos períodos de 8h e 10h de embebição à temperatura de 42°C, visando o condicionamento para o teste de tetrazólio, não diferiram significativamente da testemunha. O condicionamento de sementes de alto vigor durante 6h também foi favorável. Entretanto, o período de 4h, em ambas as temperaturas, apresentou limitação bastante séria à embebição, prejudicando drasticamente a interpretação dos resultados. Enquanto isto, o período de 10h a 35°C apresentou um bom comportamento em termos de coloração, mostrando razoável possibilidade do emprego em análises mais rápidas de laboratório.

Por outro lado, os valores de germinação potencial (TZ 1-5) de amostras de alto vigor revelaram que não se verificou diferença estatística para os tratamentos com 6h, 8h e 10h a 42°C, e de 8h e 10h a 35°C, quando comparados à testemunha (Tabela 17). Verificou-se também que na temperatura de 35°C, as amostras de médio e de baixo vigor apresentaram certa variabilidade entre os períodos de condicionamento, mostrando problemas de coloração das sementes, cuja situação afetou a leitura e interpretação do teste.

TABELA 16. Valores de vigor (TZ 1-3) de sementes de soja do cultivar BR-16, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-16		
		Tetrazólio (vigor 1-3) %		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	77,0 a ¹	56,0 a	46,5 a
42	10	77,5 a	56,0 a	44,5 ab
42	8	77,0 a	56,0 a	44,5 ab
42	6	77,0 a	53,8 bcd	41,0 c
42	4	60,0 c	44,0 e	35,0 d
35	10	74,5 ab	56,0 a	44,0 ab
35	8	72,0 b	50,8 cd	42,0 bc
35	6	63,5 c	49,8 d	34,0 d
35	4	33,5 d	31,0 f	20,0 e

Coef. Variação = 3,1%

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 17. Valores de germinação potencial (TZ 1-5) de sementes de soja do cultivar BR-16, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992 .

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-16		
		Tetrazólio (germinação potencial 1-5) %		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	84,0 a ¹	64,0 a	60,0 a
42	10	83,0 a	58,2 b	54,5 bcd
42	8	82,0 a	58,0 b	57,8 ab
42	6	79,5 ab	58,0 b	54,2 bcd
42	4	74,0 c	50,2 cd	50,0 d
35	10	81,5 a	57,0 b	56,8 ab
35	8	81,0 a	55,0 bc	55,2 abc
35	6	75,0 bc	54,0 bc	51,5 cd
35	4	60,0 d	45,5 d	40,2 e

Coef. Variação = 3,7%

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferiram entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A Tabela 18 permite observar novamente que as porcentagens de sementes deterioradas foram acentuadamente elevadas para os períodos de 4h de embebição. Esses valores refletem que a utilização deste período compromete drasticamente o condicionamento para coloração das sementes através do tetrazólio.

Observou-se, na maioria dos casos, que as sementes se apresentavam com características de mosaico e, em algumas situações, com fendas profundas no sentido transversal dos cotilédones, semelhantes a danos mecânicos. Essas lesões são idênticas às mostradas na Figura 4. Com base nesse raciocínio, sementes que poderiam ser enquadradas em classes 2, 3 ou 4 apresentaram características das classes 6 ou 7. Essa situação tende a mascarar a interpretação do teste, tanto para a avaliação da germinação como do vigor. No entanto, os períodos de 8 e 10h e, eventualmente, de 6h a 42°C e de 10h a 35°C permitiram a obtenção de resultados comparáveis à testemunha, em amostras de médio e de alto vigor. Da mesma forma observada para "OCEPAR 4-Iguaçu", as amostras de qualidade mais baixa necessitam de maior período de condicionamento, conforme citaram MARCOS FILHO et alii (1987), de modo que, neste caso, apenas o período de 10h permitiu a obtenção de resultados seguros.

TABELA 18. Valores de deterioração por "umidade" (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-16, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-16		
		Tetrazólio (deterioração por "umidade" 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	3,5 d ¹	13,0 d	13,2 d
42	10	3,5 d	12,8 d	17,2 cd
42	08	4,5 d	16,0 cd	19,2 c
42	06	8,0 cd	19,0 bc	27,2 b
42	04	14,0 b	25,0 a	45,8 a
35	10	5,0 d	12,0 d	20,0 c
35	08	5,2 d	16,8 ab	20,0 b
35	06	11,8 bc	23,0 ab	26,2 b
35	04	22 a	25,8 a	44,5 a
Coef. de variação = 14,4%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferiram entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Por outro lado, nas Tabelas 19 e 20, encontram-se os valores de danos mecânicos e lesões de percevejos em sementes do cultivar BR-16. Os resultados mostram que não houve diferença estatística para os diferentes tratamentos. Isto denota que as características provocadas por danos mecânicos e por percevejos às sementes, mesmo com 4h de embebição, não comprometeram a interpretação dos mesmos, a não ser quando a embebição de amostras de baixo vigor foi efetuada a 35°C.

Na Tabela 21, estão contidos os graus de umidade das sementes, onde se verificou que no pré-condicionamento durante 4h, tanto a 42°C como a 35°C, os valores variaram entre 23,8% a 26,0%, dependendo do nível de vigor. Esses níveis de umidade das sementes limitam, drasticamente, o desenvolvimento da coloração em contato com o tetrazólio. A partir de 6h a 42°C, o grau de umidade atingiu 31%, facilitando o desenvolvimento de coloração para a leitura e interpretação dos índices de vigor e viabilidade. Ainda ficou evidenciado que não ocorreram diferenças entre 10h/42°C, 10h/35°C e a testemunha, proporcionando um condicionamento suficiente para a coloração das sementes do referido cultivar.

TABELA 19. Valores de danos mecânicos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-16, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-16		
		Tetrazólio (dano mecânico 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	4,8 a ¹	2,8 a	3,2 a
42	10	4,5 a	2,8 a	2,0 a
42	08	4,8 a	3,2 a	2,0 a
42	06	5,0 a	2,8 a	4,0 a
42	04	5,0 a	4,0 a	4,0 a
35	10	5,0 a	5,2 a	3,8 a
35	08	5,0 a	5,0 a	3,2 a
35	06	5,0 a	4,0 a	4,0 a
35	04	6,0 a	5,5 a	5,0 a
Coef. de variação = 42,5%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 20. Valores de danos de percevejos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-16, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição e 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-16		
		Tetrazólio (dano de percevejo TZ 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	10,8 a ¹	20,3 a	14,8 b
42	10	8,3 a	19,0 a	20,3 ab
42	08	8,5 a	19,3 a	20,3 ab
42	06	8,0 a	18,8 a	19,8 ab
42	04	9,5 a	21,5 a	21,0 a
35	10	8,3 a	19,3 a	20,0 ab
35	08	7,5 a	19,3 a	20,8 a
35	06	9,0 a	19,0 a	20,8 a
35	04	11,0 a	20,8 a	24,0 a

Coef. de variação = 15,24%

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 21. Valores de graus de umidade (%) de sementes de soja do cultivar BR-16, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-16		
		Graus de umidade das das sementes (%)		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	37,0 a	37,5 a	37,0 a
42	10	38,0 a	38,8 a	37,0 a
42	08	34,5 b	34,8 b	33,8 b
42	06	31,0 c	31,0 c	31,5 c
42	04	24,5 d	26,0 d	25,0 d
35	10	36,8 a	37,5 a	37,0 a
35	08	33,5 b	33,8 b	32,8 bc
35	06	29,0 c	30,0 c	31,5 c
35	04	23,8 d	25,0 d	24,8 d
Coef. de variação = 2,4%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.3. Cultivar IAS-5

Os resultados encontrados na Tabela 22 (TZ 1-3) permitem observar que não houve diferenças significativas entre os tratamentos 6h/42°C, 8h/42°C, 10h/42°C e a testemunha, para amostras dos três níveis de vigor, demonstrando que a partir de 6h de embebição, nessa temperatura, o pré-condicionamento de sementes do cultivar IAS-5 mostrou-se plenamente satisfatório para a avaliação do vigor com o uso do teste de tetrazólio. No entanto, à temperatura de 35°C, apenas o período de 10h proporcionou informações semelhantes às fornecidas pela testemunha (16h/25°C).

Convém destacar que em várias situações, predominantes com a embebição durante 4h, ocorreu um número razoável de sementes com características de mosaico (Figura 4), com muitas delas apresentando desuniformidade de coloração e, assim, dificultando sobremaneira a leitura e interpretação do teste.

Para germinação potencial (Tabela 23), o período de 4h, tanto a 42°C como a 35°C, não se mostrou adequado. Em geral, o desenvolvimento da coloração com a nitidez necessária para a interpretação foi observado com o uso de 8h e de 10h de embebição, tanto a 35°C como a 42°C, embora o tratamento 6h/42°C também tenha se mostrado

favorável nas amostras de médio e de baixo vigor. Esses resultados reforçam aqueles obtidos nos testes preliminares.

TABELA 22. Valores de vigor (TZ 1-3) de sementes de soja do cultivar IAS-5, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	IAS-5		
		Tetrazólio (vigor 1-3) %		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	80,5 a ¹	58,8 a	36,0 a
42	10	80,0 a	58,8 a	36,0 a
42	8	79,5 a	58,8 a	35,5 a
42	6	79,0 a	58,8 a	35,0 a
42	4	56,0 d	63,5 b	20,5 c
35	10	76,8 ab	57,5 a	32,0 b
35	8	75,0 bc	57,8 a	30,8 b
35	6	74,0 bc	54,0 b	29,0 b
35	4	37,0 e	33,0 c	16,0 d

Coef. Variação = 29,0%

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 23. Valores de germinação potencial (TZ 1-5) de sementes de soja do cultivar IAS-5, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	IAS-5		
		Tetrazólio (germinação potencial 1-5) %		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	83,0 a	71,8 a	56,0 a
42	10	83,0 a	71,8 a	53,0 ab
42	8	82,5 a	69,0 a	51,0 abc
42	6	79,0 ab	68,0 a	51,0 abc
42	4	65,8 c	67,5 a	46,0 cde
35	10	80,0 ab	69,0 a	51,0 abc
35	8	77,8 ab	67,0 a	45,0 cde
35	6	75,5 b	67,0 a	45,0 cde
35	4	60,8 c	60,5 b	43,0 e
Coef. Variação = 3,9%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Na Tabela 24, encontram-se os valores de sementes deterioradas por "umidade"; nota-se que nos tratamentos 4h/35°C e 4h/42°C verificaram-se as maiores incidências de sementes com esse problema, que prejudica severamente o vigor e a germinação potencial (TZ 1-3 e 1-5). Diante dessa circunstância, fica evidenciado que períodos de embebição inferiores a 6h ou 8h podem

comprometer significativamente a leitura do teste de tetrazólio. Contudo, os resultados referentes a danos mecânicos e lesões de percevejos (Tabelas 25 e 26) não apresentaram problemas de interpretação pelo uso do referido teste, embora as leituras para identificação de sintomas de percevejos tenham sido facilitadas após embebição superior a 6h.

Com relação ao grau de umidade das sementes, os resultados determinaram que sementes do cultivar IAS-5, quando submetidas ao período de 4h de embebição, atingiram a faixa de umidade que variou entre 24 a 28,5% (Tabela 27) dependendo do nível de vigor e temperatura, o que limitou acentuadamente o comportamento das sementes em termos de condicionamento para o teste de tetrazólio; porém, a partir de 6h, geralmente detectaram-se níveis de umidade ao nível de, pelo menos, 32%, o que permite um desenvolvimento normal da coloração.

TABELA 24. Valores de deterioração por "umidade" (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar IAS-5, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	IAS-5		
		Tetrazólio (deterioração por "umidade" 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	3,2 e ¹	3,5 d	48,0 c
42	10	4,0 de	4,5 cd	49,3 c
42	08	4,5 de	5,3 cd	49,0 c
42	06	6,8 cd	6,0 bcd	50,3 bc
42	04	10,3 ab	9,0 ab	54,8 a
35	10	5,0 de	4,3 cd	50,3 bc
35	08	5,2 de	5,3 cd	53,3 ab
35	06	8,5 bc	6,8 bc	52,8 ab
35	04	21,8 a	10,5 a	55,8 a
Coef. de variação = 6,2%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 25. Valores de danos mecânicos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar IAS-5, com a 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição e 3 temperaturas. 1992.

Temperaturas de embebição (°C)	Períodos de embebição (horas)	IAS-5		
		Tetrazólio(dano mecânico 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	7,5 a ¹	7,8 a	4,8 a
42	10	6,5 a	5,0 a	4,0 a
42	08	7,0 a	4,8 a	4,0 a
42	06	6,8 a	4,8 a	3,8 a
42	04	6,5 a	7,5 a	2,8 a
35	10	6,0 a	5,5 a	4,0 a
35	08	6,8 a	5,0 a	4,5 a
35	06	6,5 a	6,8 a	3,8 a
35	04	9,5 a	8,8 a	4,0 a
Coef. de variação = 35,8%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 26. Valores de danos de percevejos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar IAS-5, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	IAS-5		
		Tetrazólio (dano de percevejo TZ 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	6,3 a ¹	16,8 b	5,3 a
42	10	5,5 a	17,8 ab	4,8 a
42	08	7,3 a	18,8 ab	4,8 a
42	06	7,0 a	21,0 a	5,0 a
42	04	8,5 a	20,8 a	4,8 a
35	10	5,5 a	18,5 ab	4,3 a
35	08	7,5 a	18,5 ab	6,0 a
35	06	7,5 a	21,0 a	5,8 a
35	04	9,3 a	21,0 a	6,5 a
Coef. de variação = 16,0%				

1

Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 27. Valores de graus de umidade (%) de sementes de soja do cultivar IAS-5, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	IAS-5		
		Graus de umidade das sementes (%)		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	38,0 a ¹	38,0 a	38,8 a
42	10	37,8 a	37,8 a	38,0 a
42	08	34,8 b	36,0 ab	35,8 b
42	06	32,0 bc	33,0 cd	34,5 b
42	04	27,0 e	28,5 e	27,8 d
35	10	35,0 b	36,8 ab	35,8 b
35	08	33,0 bc	35,0 bc	34,5 b
35	06	30,0 d	32,0 cd	32,5 e
35	04	24,0 f	25,0 f	25,5 e
Coef. de variação = 2,5%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.4. Cultivar BR-30

Os resultados da Tabela 28 (TZ 1-3) mostraram que não foram constatadas diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade para os períodos de 6h/42°C, 8h/42°C, 10h/42°C, 8h/35°C e 10h/35°C quando comparados à testemunha (16h/25°C). Esses resultados proporcionaram excelentes condições de condicionamento para que sementes do cultivar BR-30, desenvolvessem coloração uniforme, inclusive, sem afetar os índices de leitura do vigor. Porém, os tratamentos 4h/42°C e 4h/35°C novamente não foram satisfatórios.

Por outro lado, os valores da Tabela 29 (TZ 1-5), indicaram que não houve diferença estatística para os períodos de 6h, 8h, 10h à temperatura de 42°C, quando comparados com a testemunha; o mesmo ocorreu, de um modo geral quando as amostras foram pré-condicionadas a 35°C. DELOUCHE et alii (1976) consideraram que o pré-condicionamento de sementes de soja deve ser de, no mínimo, 6h, utilizando-se de papel substrato umedecido; entretanto, a maioria dos laboratórios de sementes, normalmente tem preferência pelo período de 16h.

A Tabela 30, apresenta os valores de sementes deterioradas por "umidade", onde se constata que após período de 4h, tanto na temperatura de 42°C como de

35°C, houve índices elevados de sementes com problemas de deterioração, especialmente para os níveis médio e baixo de vigor (TZ 6-8). Enquanto isso, os resultados ainda destacaram que não ocorreram diferenças significativas, ao nível de 5% pelo teste de Tukey, para 6h/42°C, 8h/42°C, 10h/42°C, 8h/35°C e 10h/35°C quando comparadas com a testemunha. Isto confirma que estes períodos podem ser empregados normalmente em análises de vigor e germinação potencial (TZ 1-3 e 1-5).

Com relação a danos mecânicos e lesões de percevejos sugadores, os resultados (Tabelas 31 e 32) acusaram que não ocorreram problemas de interpretação durante a execução do teste de tetrazólio, pois a análise estatística na maioria das situações não mostrou diferenças significativas entre os tratamentos estudados.

Os resultados contidos na Tabela 33 mostram que o grau de umidade das sementes com 4h a 42°C e a 35°C, atingiu a faixa de 25 a 27,5% o que limita o condicionamento para fins de coloração através do tetrazólio. Todavia, a partir de 6h/42°C as sementes atingiram 31% de água, permitindo uma coloração adequada das sementes. Diferentes estudos têm demonstrado a importância da temperatura na velocidade de embebição de água pelas sementes. Diante do fato, BURCH & DELOUCHE (1959), COPELAND (1976), HSU et alii (1983) destacam que

temperaturas elevadas promovem a aceleração do mecanismo de embebição pelas sementes, facilitando de forma direta o condicionamento das sementes para execução do teste de tetrazólio em menor espaço de tempo. Por sua vez, CARVALHO & NAKAGAWA (1988), SHINEIDER et alii (1974), WOLF & BAKER (1972) afirmam que, além da constituição química das sementes, as características de permeabilidade do tegumento, como número, tamanho e mesmo a forma dos poros participam igualmente na velocidade de embebição

TABELA 28. Valores de vigor (TZ 1-3) de sementes de soja do cultivar BR-30, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-30		
		Tetrazólio (vigor 1-3) %		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	72,8 a ¹	60,0 a	39,5 a
42	10	72,5 ab	61,0 a	39,0 a
42	8	71,0 ab	57,0 ab	38,5 a
42	6	70,8 ab	57,0 ab	37,8 a
42	4	60,0 c	51,5 c	32,0 bc
35	10	71,0 ab	56,5 b	38,0 a
35	8	71,0 ab	56,5 b	38,0 a
35	6	68,0 b	56,0 b	37,8 ab
35	4	52,8 d	49,0 c	29,8 c

Coef. Variação = 3,3%

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 29. Valores de germinação potencial (TZ 1-5) de sementes de soja do cultivar BR-30, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-30		
		Tetrazólio (germinação potencial 1-5) %		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	85,0 a ¹	73,0 a	46,0 a
42	10	84,0 a	73,0 a	46,0 a
42	8	84,0 a	72,5 a	45,0 a
42	6	82,0 a	68,0 ab	43,5 a
42	4	74,8 b	61,8 cd	41,0 c
35	10	82,0 a	71,0 a	43,5 a
35	8	80,5 ab	68,5 ab	43,0 a
35	6	78,8 ab	64,5 bc	42,0 a
35	4	65,8 c	57,0 d	40,0 a
Coef. Variação = 4,5%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 30. Valores de deterioração por "umidade" (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-30, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-30		
		Tetrazólio (deterioração por "umidade" 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	2,3 b ¹	3,5 c	13,5 bc
42	10	2,3 b	3,3 c	7,5 d
42	08	2,8 b	4,8 bc	8,8 cd
42	06	4,3 b	4,8 bc	12,3 bcd
42	04	12,5 a	19,5 a	16,0 b
35	10	3,3 b	6,5 bc	9,3 cd
35	08	5,8 b	8,0 bc	14,5 bc
35	06	6,8 b	10,0 b	16,0 b
35	04	13,2 a	21,8 a	23,3 a
Coef. de variação = 26,2%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 31. Valores de danos mecânicos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-30, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-30		
		Tetrazólio (dano mecânico 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	6,8 a ¹	4,5 a	5,0 a
42	10	6,0 a	5,0 a	4,5 a
42	08	7,0 a	6,8 a	4,8 a
42	06	8,0 a	6,0 a	4,8 a
42	04	8,0 a	6,0 a	5,0 a
35	10	7,8 a	6,2 a	4,8 a
35	08	8,0 a	6,8 a	5,8 a
35	06	8,0 a	6,5 a	6,0 a
35	04	8,0 a	6,0 a	6,5 a
Coef. de variação = 29,5%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 32. Valores de danos de percevejos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-30, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-30		
		Tetrazólio (dano de percevejo TZ 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	8,5 a ¹	17,5 a	25,0 b
42	10	8,8 a	16,5 a	27,8 ab
42	08	9,0 a	16,3 a	26,8 b
42	06	8,8 a	16,0 a	31,3 ab
42	04	13,8 a	17,3 a	31,8 ab
35	10	9,3 a	15,0 a	30,8 ab
35	08	10,0 a	15,8 a	29,8 ab
35	06	9,0 a	16,0 a	31,3 ab
35	04	14,0 a	19,8 a	34,5 a
Coef. de variação = 16%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 33. Valores de graus de umidade (%) de sementes de soja do cultivar BR-30, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-30		
		Graus de umidade das sementes (%)		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	38,0 a ¹	39,0 a	38,0 a
42	10	38,5 a	39,0 a	37,8 a
42	08	34,0 b	34,8 b	35,0 b
42	06	30,8 c	31,0 c	30,8 c
42	04	27,5 d	26,0 d	25,8 d
35	10	37,5 a	38,0 a	37,5 a
35	08	33,0 b	34,0 b	34,0 b
35	06	29,0 c	29,5 c	29,0 c
35	04	26,0 d	25,0 d	25,0 d
Coef. de variação = 2,7%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.5. Cultivar BR-4

A análise estatística mostrou que as amostras pré-condicionadas durante 4h e 6h, tanto a 42°C como a 35°C, apresentaram comportamentos estatisticamente diferentes da testemunha, no teste TZ 1-3 (Tabela 34). Observa-se que apenas os tratamentos 8h/42°C, 10h/42°C e 10h/35°C apresentaram resultados comparáveis à testemunha, o mesmo ocorrendo durante a avaliação da germinação potencial (Tabela 35), quando o tratamento 8h/35°C também se mostrou eficiente.

Quando o pré-condicionamento foi conduzido durante 4h ou 6h as sementes, após a coloração, estavam com bastante problemas, principalmente com características de mosaico e, muitas delas, com intensa coloração em toda extensão dos cotilédones e no eixo-embrionário, dificultando a interpretação dos níveis de vigor.

Os resultados de deterioração por "umidade" (Tabela 36), mostraram que o período de 4h a 42°C e, principalmente a 35°C, proporcionou valores elevados de sementes deterioradas, chegando a ultrapassar a 30% na temperatura de 35°C, para todos os níveis de vigor. De um modo geral, os resultados mais consistentes foram obtidos com o pré-condicionamento durante 8h ou 10h. Por sua vez, GRABE (1976) destaca que a cor é apenas um dos indicadores que deve ser cuidadosamente observado durante a

interpretação do teste de tetrazólio. A turgescência dos tecidos e ausência de fraturas localizadas em regiões críticas, contusões e lesões proporcionadas por insetos devem ser anotadas. Todavia, COPELAND et alli (1959) comentam que o pré-condicionamento antes da coloração, constitui numa das etapas críticas do teste. O autor ainda acrescenta que numa absorção lenta de água em temperatura controlada é extremamente desejável e necessária para prevenir fraturas de partes do embrião e por estimular a atividade enzimática que é um dos pré-requisitos do processo respiratório. Todavia, o estudo em questão mostra claramente que a partir de 8h de condicionamento na temperatura de 42°C para o cultivar BR-4 e eventualmente 6h à 42°C, para os cultivares, BR-16, IAS-5 e BR-30 apresentou resultados consistentes em termos de condicionamento para leitura e interpretação dos níveis de vigor (TZ 1-3) e germinação potencial (TZ 1-5).

Nas Tabelas 37 e 38, encontram-se os valores de danos mecânicos e de percevejos. Como ocorreu com os cultivares anteriores, não houve, em geral, diferença significativa entre os tratamentos. Assim, neste cultivar, pode-se verificar que os referidos danos puderam ser interpretados normalmente após o condicionamento durante 4h; os erros que porventura ocorreram, provavelmente não se

traduziram em limitações graves para execução do teste em questão.

Quanto aos resultados de graus de umidade das sementes, observou-se que o período de 10h, tanto a 42°C como a 35°C, não apresentou diferenças estatísticas (Tabela 39) quando comparado com a testemunha (16h/25°C). Isto indica que sementes do cultivar BR-4 não foram afetadas por ocasião da leitura do tetrazólio. Todavia, 4h/35°C e 4h/42°C, conduziram as sementes a graus de umidade significativamente inferiores, o que normalmente indica problemas de condicionamento para o desenvolvimento da coloração do teste. Contudo, a partir de 8h/42°C obtiveram-se graus de umidade superior a 33%, o que facilitou o processo de coloração.

TABELA 34. Valores de vigor (TZ 1-3) de sementes de soja do cultivar BR-4, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-4		
		Tetrazólio (vigor 1-3) %		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	78,5 ab ¹	59,5 a	43,5 a
42	10	80,5 a	57,5 ab	40,5 ab
42	8	77,8 ab	56,0 abc	36,0 b
42	6	72,0 c	55,0 abc	36,0 b
42	4	61,8 d	52,8 c	30,0 d
35	10	75,0 bc	58,0 ab	39,5 ab
35	8	74,5 bc	54,8 bc	36,0 b
35	6	72,0 c	54,5 bc	31,5 cd
35	4	61,0 d	27,0 d	22,0 e

Coef. Variação = 3,9%

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 35. Valores de germinação potencial (TZ 1-5) de sementes de soja do cultivar BR-4, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-4		
		Tetrazólio (germinação potencial 1-5) %		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	90,8 a ¹	72,0 a	56,5 a
42	10	87,8 ab	73,0 a	54,5 a
42	8	82,0 bcd	70,8 ab	53,8 ab
42	6	78,0 cde	66,0 bc	47,8 bcd
42	4	74,5 e	63,0 c	46,5 cde
35	10	83,0 bc	60,0 ab	63,0 ab
35	8	78,5 cde	67,0 abc	50,0 abc
35	6	78,8 de	66,0 bc	43,0 de
35	4	55,8 f	51,5 d	40,0 e

Coef. Variação = 4,5%

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 36. Valores de deterioração por "umidade" (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-4, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-4		
		Tetrazólio (deterioração por "umidade" 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	5,5 d ¹	13,0 b	11,3 c
42	10	3,0 d	6,0 e	11,3 c
42	08	9,0 cd	7,3 bc	11,0 c
42	06	12,3 bc	12,0 bc	17,0 bc
42	04	17,0 b	13,0 b	20,3 b
35	10	5,8 d	10,0 bc	11,3 c
35	08	8,5 cd	11,8 bc	16,0 bc
35	06	13,0 bc	12,3 bc	16,5 bc
35	04	40,3 a	34,5 a	33,3 a
Coef. de variação = 20,0%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 37. Valores de danos mecânicos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-4, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-4		
		Tetrazólio (dano mecânico 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	5,8 b ¹	5,8 a	7,0 a
42	10	7,0 ab	8,5 a	7,8 a
42	08	8,5 ab	8,5 a	8,0 a
42	06	8,5 ab	7,2 a	7,0 a
42	04	9,3 ab	8,5 a	7,2 a
35	10	7,0 ab	9,2 a	8,2 a
35	08	8,5 ab	8,2 a	8,2 a
35	06	8,8 ab	8,5 a	8,5 a
35	04	9,8 a	8,5 a	8,5 a
Coef. de variação = 21,6%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 38. Valores de danos de percevejos (TZ 6-8) de sementes de soja do cultivar BR-4, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-4		
		Tetrazólio (dano de percevejo TZ 6-8)%		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	2,3 a ¹	15,0 a	22,5 b
42	10	2,0 a	13,0 a	23,3 b
42	08	2,5 a	12,3 a	22,5 a
42	06	4,0 a	12,8 a	22,5 b
42	04	4,0 a	16,8 a	25,8 b
35	10	2,8 a	13,3 a	23,3 b
35	08	2,5 a	13,0 a	23,5 b
35	06	4,3 a	12,8 a	23,0 b
35	04	4,0 a	15,8 a	33,3 a

Coef. de variação = 19,172%

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferiram entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 39. Valores de graus de umidade (%) de sementes de soja do cultivar BR-4, com 3 níveis de vigor após 5 períodos de embebição a 3 temperaturas. 1992.

Temperatura de embebição (°C)	Período de embebição (horas)	BR-4		
		Graus de umidade das sementes (%)		
		Nível de vigor		
		Alto	Médio	Baixo
25 (Test.)	16	36,8 a ¹	37,2 ab	37,2 ab
42	10	37,2 a	38,0 a	39,0 a
42	08	34,0 b	33,8 cd	34,0 c
42	06	31,2 cd	31,5 e	31,0 d
42	04	27,0 e	28,0 fg	28,0 e
35	10	36,5 a	35,5 bc	36,0 b
35	08	32,8 bc	33,2 de	34,0 c
35	06	30,0 d	29,2 f	30,8 d
35	04	25,5 e	26,2 g	26,8 e
Coef. de variação = 2,5%				

¹ Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferiram entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.3. Considerações gerais

Os resultados dessa pesquisa mostraram, de forma consistente, que os períodos de 4h/35°C e 4h/42°C não foram suficientes para a ativação enzimática e absorção de quantidade adequada de água para o condicionamento das sementes. Isto implica que estes períodos não devem ser empregados rotineiramente para o teste de tetrazólio, já que os erros advindos, poderão prejudicar significativamente os resultados. Todavia, o período de 6h/42°C apresentou-se como alternativa razoável, pois os valores de vigor e germinação potencial (TZ 1-3 e 1-5) das sementes dos cultivares BR-16, BR-30 e IAS-5 não foram estatisticamente diferentes da testemunha (16h/25°C). Os valores apresentados nas Tabelas 15, 21, 27, 33, 39, prognosticaram que 4h/35°C não proporcionou embebição adequada pois, além das alterações morfológicas (sementes ocas), ocorreram índices acentuados de sementes com características de mosaico, cujos sintomas comprometem de maneira irreversível as avaliações do vigor e da germinação potencial. Percebeu-se também que o período de 6h, tanto na temperatura de 35°C como de 42°C, afetou o desenvolvimento normal da coloração das sementes, especialmente dos cultivares Ocepar 4-Iguaçu e BR-4, onde se constatou a presença de sementes com características de mosaico.

Pelo visto, o analista deve ter o máximo de cautela e atenção, observando atentamente a intensidade de coloração da plúmula, do cilindro central e da extremidade da radícula, quando se emprega esse período de condicionamento. Embora o período de 6h de embebição para o pré-condicionamento tenha se mostrado limitante para a condução do teste em 2 cultivares, em função do desenvolvimento inadequado da coloração determinado pela absorção inicial de quantidades insuficientes de água, os resultados aqui obtidos sugerem, pelo menos, a necessidade da continuidade da pesquisa. Um dos aspectos não abordados neste trabalho e que pode originar resultados também promissores é a utilização de concentrações mais elevadas do cloreto de tetrazólio; deve-se considerar, porém, que o preço elevado desse sal limita a recomendação do uso de soluções muito concentradas.

De modo geral, os resultados contidos na Tabela 40, mostraram que o período de 10h de embebição a 42°C propiciou graus de umidade das sementes que não diferiu estatisticamente quando comparados com o da testemunha (16h/25°C). O grau de umidade das sementes dos 5 cultivares após o pré-condicionamento superou 37%. Nessa faixa de umidade geralmente consegue-se um padrão de coloração pelo teste de tetrazólio com boa nitidez, o que facilitará a leitura e interpretação dos níveis de vigor.

A maioria dos trabalhos conduzidos nos laboratórios de sementes, normalmente emprega a faixa de temperatura de 30°C a 35°C, para que as sementes atinjam uma coloração adequada na solução de tetrazólio. Contudo, para condução dessa pesquisa, o processo de coloração ocorreu na temperatura de 40°C para sementes de todos os cultivares de soja, durante o período de 2h. Dentro dessa linha de raciocínio, GRABE (1959) destaca que a coloração através do tetrazólio pode se verificar tanto na temperatura ambiente como a 40°C. Essa opção irá depender da espécie a ser avaliada ou mesmo dos equipamentos disponíveis no local de trabalho. Todavia, este autor, estudando diferentes derivados de tetrazólio, concluiu que na temperatura de 40°C a redução do cloreto de 2, 3, 5 trifenil tetrazólio (TTC) foi em torno de 2 horas, trazendo como consequência ganhos expressivos de tempo para a realização do teste.

Nas tabelas 15, 21, 27, 33 e 39 estão contidos os graus de umidade das sementes. Os resultados determinaram que nos tratamentos 4h/35°C e 4h/42°C, os graus de umidade variaram de 23,5 até 28% para os cinco cultivares. Isto reforça a idéia de que nessa faixa de umidade, as sementes apresentaram sérios problemas, como coloração desuniforme e tegumento "endurecido", o que dificulta a leitura e interpretação dos níveis de vigor

pelo tetrazólio. VEIGA (1988) argumentou que a maior permeabilidade à água ou à solução de tetrazólio apresentada pelos tratamentos com maior duração de condicionamento, estaria relacionada com a recomposição do sistema de membranas, que teria maior espaço de tempo para ocorrer no período de 16h.

Entretanto, para 6h/42°C, as sementes atingiram graus de umidade superiores a 30% facilitando a leitura e interpretação dos resultados, especialmente para os cultivares BR-16, BR-30 e IAS-5.

Contudo, períodos de embebição superiores a 8h, proporcionaram a obtenção de graus de umidade superiores a 33%, refletindo um condicionamento adequado e, por conseguinte, a obtenção de coloração nítida das sementes. Alguns trabalhos mostram a importância da temperatura na velocidade de embebição de sementes; BURCH & DELOUCHE (1959) COPELAND (1976), HSU et alii (1983) afirmaram que a velocidade de embebição de água aumenta com a elevação de temperatura, sendo que isto é decorrente do aumento da pressão de difusão da água. Acrescentam, também, que a água provoca a turgescência das células e, em consequência, o crescimento em volume, fazendo com que o tegumento torne-se mais permeável.

Os resultados de deterioração por "umidade" (TZ 6-8) mostraram claramente que o período de 4h foi,

também, o mais limitante para obtenção de um padrão de coloração uniforme das sementes. Essa constatação elimina a possibilidade do uso desse período de condicionamento, visando a execução do teste de tetrazólio. Com relação a danos mecânicos e de percevejos, observou-se que os mesmos não constituíram problemas de interpretação para todos os períodos de embebição. Pois, esses tipos de danos são muito característicos, quando comparados com deterioração por umidade. As análises de correlação mostraram que todos os tratamentos, à exceção de 4h/35°C no teste TZ 1-3, correlacionaram-se significativamente com os valores de germinação, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica e emergência das plântulas (Tabelas 41 e 42), para todos os níveis de vigor e cultivares. Esta constatação foi também verificada por PEREIRA (1976), o qual observou que uma boa indicação de emergência pode ser fornecida pelos valores do teste de tetrazólio (vigor 1-3). Por outro lado, os resultados da germinação potencial (TZ 1-5) referentes aos 5 períodos de condicionamento, quando comparados os testes citados anteriormente, também revelaram correlação altamente significativa para todas as variáveis. Através de um estudo semelhante, PASHA & DAS (1982), comparando a viabilidade de sementes, usando o teste de tetrazólio com o teste de germinação, encontraram uma clara associação entre os resultados. Esses autores consideram o teste de

tetrazólio seguro, confiável e apropriado para determinar a capacidade de germinação de um lote de sementes de soja. Enquanto isto, COSTA et alii (1988) avaliando 10 lotes de sementes da soja, detectaram que o vigor (TZ 1-3) apresentou boa relação com os valores de germinação, envelhecimento acelerado e emergência das plântulas.

BARROS (1988) comenta que o uso exclusivo de análise de correlação em estudos comparativos de testes rápidos, pode originar informações incompletas, uma vez que essa análise somente indica variação de comportamento entre os dados avaliados, não fornecendo, por exemplo, indicações consistentes quanto as diferenças de qualidade observadas entre lotes.

TABELA 40. Relação dos tratamentos de embebição que propiciaram grau de umidade das sementes que estatisticamente não diferiram daquele apresentado pela testemunha (16h/25°C), para 5 cultivares de soja com 3 níveis de vigor. 1992.

Cultivar	Níveis de vigor		
	Alto	Médio	Baixo
OCEPAR 4-IGUAÇU	10/42 ^{1/}	10/42 8/42 10/35	10/42
Umidade(%) - testemunha (16h/25°C)	38,0	38,0	38,8
BR-16	10/42 10/35	10/42 10/35	10/42 10/35
Umidade(%) - testemunha (16h/25°C)	37,0	37,5	37,0
IAS-5	10/42	10/42 8/42 10/35	10/42
Umidade(%) - testemunha (16h/25°C)	38,0	38,0	38,8
BR-30	10/42 10/35	10/42 10/35	10/42 10/35
Umidade(%) - testemunha (16h/25°C)	38,0	39,0	38,0
BR-4	10/42 10/35	10/42	10/42
Umidade(%) - testemunha (16h/25°C)	36,8	37,2	37,2

^{1/}Tratamento (h/°C) de embebição que propiciaram grau de umidade das sementes que estatisticamente não diferiram daquele apresentado pela testemunha (16h/25°C).

TABELA 41. Coeficientes de correlação^{1/} simples (r) entre vigor (tetrazólio 1-3), correspondente a três níveis de temperatura e cinco períodos de embebição com os testes de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em casa-de-vegetação, condutividade elétrica, dos cultivares OCEPAR 4-Iguaçu, BR-16, IAS-5, BR-30 e BR-4, com três níveis de vigor. 1992.

Testes	Tetrazólio (vigor 1-3)								
	4 horas		6 horas		8 horas		10 horas		16 horas
	35°C	42°C	35°C	42°C	35°C	42°C	35°C	42°C	25°C
Germinação	0,51 ^{ns}	0,81 [*]	0,91 [*]	0,91 [*]	0,92 [*]	0,95 [*]	0,95 [*]	0,95 [*]	0,95 [*]
Envelhecimento acelerado	0,37 ^{ns}	0,73 [*]	0,89 [*]	0,88 [*]	0,89 [*]	0,93 [*]	0,92 [*]	0,94 [*]	0,93 [*]
Emergência	0,46 ^{ns}	0,71 [*]	0,83 [*]	0,86 [*]	0,87 [*]	0,91 [*]	0,89 [*]	0,91 [*]	0,89 [*]
Condutividade elétrica	0,34 ^{ns}	0,80 [*]	0,90 [*]	0,91 [*]	0,94 [*]	0,94 [*]	0,95 [*]	0,94 [*]	0,94 [*]

^{1/}

* Número de observações = 15

Significativo pelo teste t ao nível de 5% de probabilidade

TABELA 42. Coeficientes de correlação^{1/} simples (r) entre germinação potencial (Tetrazólio 1-5), correspondente a três níveis de temperatura e cinco períodos de embebição com os testes de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em casa-de-vegetação, condutividade elétrica, dos cultivares OCEPAR 4-Iguaçu, BR-16, IAS-5, BR-30 e BR-4, com três níveis de vigor. 1992.

Testes	Tetrazólio (germinação potencial 1-5)								
	4 horas		6 horas		8 horas		10 horas		16 horas
	35°C	42°C	35°C	42°C	35°C	42°C	35°C	42°C	25°C
Germinação	0,86*	0,96*	0,97*	0,98*	0,98*	0,98*	0,98*	0,97*	0,98*
Envelhecimento acelerado	0,72*	0,87*	0,90*	0,92*	0,88*	0,90*	0,90*	0,90*	0,92*
Emergência	0,83*	0,89*	0,90*	0,92*	0,91*	0,91*	0,90*	0,90*	0,93*
Condutividade elétrica	0,69*	0,85*	0,88*	0,90*	0,87*	0,88*	0,87*	0,87*	0,90*

^{1/}

* Número de observações = 15

Significativo pelo teste t ao nível de 5% de probabilidade

5. CONCLUSÕES.

A análise dos dados e a interpretação dos resultados obtidos no presente trabalho permitiram concluir que há possibilidade da redução do período de tempo necessário para a condução do teste de tetrazólio em amostras de sementes de soja, visando tanto a avaliação da germinação potencial (TZ 1-5) como a do vigor (TZ 1-3).

Neste sentido, a temperatura empregada para o pré-condicionamento das amostras é fundamental. Assim, a embebição das sementes a 42°C durante 8 a 10h e, eventualmente, durante 6h, permite o posterior desenvolvimento de coloração nítida e suficiente para o exame adequado das áreas vitais das sementes e a identificação de sintomas de deterioração causada por "umidade", de danos provocados por percevejos e da ocorrência de injúrias mecânicas.

De maneira geral, sementes dos cultivares em estudo apresentavam bom aspecto de coloração no teste de tetrazólio, quando o grau de umidade das sementes atingiu valor mínimo de 36%.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, A.S.R. Testes para avaliação rápida da viabilidade e vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Piracicaba, ESALQ, 1988. 140p. (Mestrado-ESALQ-USP).
- BEWLEY, J.D. & BLACK, M. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. New York, Springer-verlag, 1978. v.1. 306p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Regras para Análise de Sementes. Brasília, DF. 1980. 188p.
- BURCH, J.A. & DELOUCHE, J.C. Absorption of water by seed. Proc. Ass. Off. Seed Analysis. 49:142-50. 1959.
- CARVALHO, N.C. Vigor de Sementes. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1. Piracicaba, 1986. Anais. Campinas, Fundação Cargill, 1986. p.207-23.
- CARVALHO, N.M. & NAGAKAWA, J. Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção. Campinas, Fundação Cargill, 1988. 429p.
- COLBRY, V.L.; SWOFFORD, T.F.; MOORE, R.P. Test for germination in the laboratory. The yearbook of agriculture:433-442, 1961.
- COPELAND, L.O. Seed Germination. In: Principles of seed science and tecnologia. Minneapolis, Burgess, 1976. 369p.
- COPELAND, T.G.; BRUCE, C.F. ; MIDYETT JUNIOR, Y.W. The unofficial application of tetrazolium tests as an aid in checking germination claims. Proc. Assoc. Off. Seed Analysts. 49:134-141, 1959.
- COSTA, J.A. & MARCHEZAN, E. Características dos Estádios e Desenvolvimento da Soja. Campinas, Fundação Cargill, 1982, 30p.
- COSTA, N.P.; FRANÇA NETO, J. de B.; OLIVEIRA, M.C.N. Padronização de testes de vigor para sementes de soja. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Londrina. PR. Resultados de Pesquisa de Soja 1986/87. Londrina, PR, EMBRAPA-CNPSO, 1988. p.358-9.

- DELOUCHE, J.C. Planting seed quality In: BELTWIDE COTTON PRODUCTION MECHANIZATION CONFERENCE, Memphis Tenn, 1969. Proceeding.... New Orleans National Cotton Council of America, 1969, p. 16-8.
- DELOUCHE, J.C. Precepts of seed storage. In: SHORT COURSE FOR SEEDS MEN, 16, Mississippi, 1973. Mississippi, Seed Technology Laboratory, 1973. p.97-122.
- DELOUCHE, J.C. & BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. Seed Science and Technology, Norway, 1(2):427-52, 1973.
- DELOUCHE, J.C.; STILL T.W.; RASPET, M; LIENHARO, M. O teste de tetrazólio para viabilidade da semente. Brasília, AGIPLAN, 1976. 103p.
- FRANÇA NETO, J.B. Pathological and Physiological Studies of soybean Seed Quality. Gainesville, University of Florida, 1989. 119p. (Doutorado. University of Florida.
- FRANÇA NETO, J de B.; HENNING, A.A.; COSTA, N.P. da. Recuperação da qualidade de sementes de soja submetidas ao envelhecimento precoce. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Londrina, PR. Resultados de pesquisa de soja 1984/85. Londrina, 1985. p.446-47.
- FRANÇA NETO, J.B.; PEREIRA, L.A.G.; COSTA, N.P.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. Metodologia do Teste de Tetrazólio, em Sementes de Soja. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1988. 37p. (EMBRAPA/CNPSo, Documentos, 37).
- GRABE, D.F. Manual do Teste de Tetrazólio em Sementes. Brasília, DF, AGIPLAN, 1976. 85p.
- GRABE, D.F. Technique for interpretation of tetrazolium tests. Proc. Ass. Off. Seed Anal., 49:131-3, 1959.
- HSU, K.H.; KIM, C.J.; WILSON, L.A. Factores affecting water uptake of soybean during soaking. Cereal Chemistry, 60(3):208-11, 1983.
- ISELY, D. Vigor test. Proceedings of the Association of Official Seed Analysts, Washington, 47:176-82, 1957.
- JENSEN, R.L. & MENSON, L.D. Effect of stink-bug damaged soybean seed on germination, emergence and yeld. J. Econ. Entomol., 55:261-64, 1972.

- JENSEN, C.D.; SACKS, W.; BALDAUSKI, F.A. The reduction of trifohennyl tetrazolium chloride by dehydrogenases of embryos. Science, 113:65-6, 1951.
- JOHNSON, R.R. & WAX, L.M. Relationship of soybean germination and vigor tests to field performance. Agronomy Journal, Madison, 76(2):273-78, março/abril, 1978.
- KRZYŻANOWSKI, F.C. & FRANÇA NETO, J.B. Situação atual do uso de testes de vigor como rotina em programas de sementes no Brasil. In: WORKSHOP BRASILEIRO DE CONTROLE DE QUALIDADE DE SEMENTES, 1, ESAL, 1991, Lavras, MG. 14p. (Informativo ABRATES) (no prelo).
- KRZYŻANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. Informativo ABRATES, 1(2):72, 1991.
- LABOURIAU, L.G.A. A germinação das sementes. Washington, OEA, 1983. 174p. (Coleção de Monografias Científicas Biológicas, 24).
- LAKON, G. The topographical tetrazolium method for determining the germinating capacity of seed. Plant Physiology, 24(3):389-94, 1949.
- MARCOS FILHO, J. Germinação de Sementes. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1, Piracicaba, 1986, Anais... Campinas, Fundação Cargill, 1986. p.11-39.
- MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. Teste de tetrazólio. Piracicaba, ESALQ/Departamento de Agricultura e Horticultura, 1987. 40p.
- MCDONALD JUNIOR, M.B. A review and evaluation of seed vigor tests. Proc. assoc. off. Seed Analysts, Lansing, 65:109-39, 1975.
- MCDONALD, JR., M.B.; VERTUCCI, C.W.; ROOS, E.C. Seed coat regulation of soybean imbibition. Crop Science, Madison, 28:987-92, 1988.
- METZER, R.B. The vitascope-an aid for rapid determination of viable seed viability. Texas, Agric. Experimental Station, 1960. (MP 433).
- MONDRAGON, R.L. & POTTS, H.C. Field deterioration of soybean as affected by environment. Proc. Assoc. off Seed Anal., 64:63-71, 1974.

- MOORE, R.P. Tetrazolium staining for assessing seed quality. In: HEYDECKER (ed) Seed Ecology. Pennsylvania, State University Press, 1973. p.347-66.
- MOORE, R.P. Handbook on tetrazolium testing. s.l. The International Seed Testing Association. 1985. 99p.
- MOORE, R.P. TZ checks your seed for quality. Crops and soils, 15(1):10-2, 1962.
- MOTTA, C.A.P. Comparação de testes de vigor em sementes de soja com a emergência das plântulas a campo. Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, 1986. 90p. (Mestrado - Universidade Federal de Pelotas).
- ORGANIZAÇÃO DAS COOPERATIVAS DO ESTADO DO PARANÁ. Cascavel, PR. Recomendações técnicas para a cultura da soja no Paraná 1991/92. Cascavel, OCEPAR/EMBRAPA-CNPSO, 1991. 123p. (OCEPAR, Boletim Técnico, 29: EMBRAPA-CNPSO - Documentos, 47).
- PANDEY, D.K. Priming induced alleviation of the effects of natural ageing derived selective leakage of constituents in french bean seeds. Seed Science & Technology, 17(2):391-397, 1989.
- PANIZZI, A.R.; SMITH, J.C.; PEREIRA, L.A.G.; YAMASHITA, J. Efeito de danos de *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) no rendimento e qualidade da soja. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 1, Londrina, 1978. Anais... Londrina, EMBRAPA-CNPSO, 1979. v.2, p.59-78.
- PASHA, M.R. & DAS R.K. Quick viability test of soybean seed by using tetrazolium chloride. Seed science and technology, Zurich, 10(2):651-5, 1982.
- PEREIRA, L.A.G. Comparisons of selected vigor tests for evaluating soybean seed quality. Mississippi, 1974. 74p. (Mestrado - Mississippi State University).
- PEREIRA, L.A.G. & ANDREWS, C.H. Comparison of non-wrinkled and wrinkled soybean seedcoats by scanning electron microscopy. Seed Science and Technology, 13:853-59, 1985.
- PESKE, S.T. & PEREIRA, L.A.G. Tegumento da semente de soja. Tecnologia de sementes, Pelotas, 6(1/2):23-4, 1983.

- POLLOCK, B.M. & ROOS, E.E. Seed and seedling vigor. In: KOSLOWSKI, T.T., ed. Seed Biology. New York, Academic Press, 1972. v.1. p.313-87.
- SCHNEIDER, R.W.; DHINGRA, O.D.; NICHOLSON, J.F.; SINCLAIR, J.B. *Colletotrichum truncatum* borne within the seedcoat of soybean. Phytopathology, 64:154-55, 1974.
- SHUEL, R.W. Seed germinability tests with 2,3,5 - triphenyl tetrazolium chloride. Sci. Agr., 28:34-5, 1948.
- SMITH, F.G. Tetrazolium salt. Science, 13:751-4, 1951.
- SMITH, F.G. The mechanism of the tetrazolium reaction in corn embryos, Plant Phys., 27:445-56, 1952.
- SMITH, F.G. & THRONEBERRY, G.O. The tetrazolium test and seed viability. Proc. Ass. Off. Seed Anal., 105-8, 1951.
- SOUZA, F.H.D. Características físicas e fisiológicas associadas à absorção de água por sementes de Calopogonium mocunoides desv. Piracicaba, ESALQ, 1992. p. 159. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- THRONEBERRY, G.O. Some aspects of the tetrazolium reaction in seeds and the enzymes involved. Ames, Iowa State Univ., Ames, 1952. (Mestrado - Iowa State University).
- TILDEN, R.L. & WEST, S.H. Reversal of the effects of aging in soybean seeds. Plant Physiology, 77:584-586, 1985.
- VEIGA, A.S. Efeito dos diferentes tempos de embebição na determinação da viabilidade de sementes de soja pelo teste de tetrazólio. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, 1988. 12p.
- VILLAS BÔAS, G.L.; GAZZONI, D.L.; FRANÇA NETO, J.B.; COSTA, N.P.; HENNING, A.A.; ROESSING, A.C. Efeito de cinco populações de percevejos sobre características da soja, cultivar UFV-1. Londrina, EMBRAPA-CNPSO, 1982. 13p. (EMBRAPA-CNPSO. Pesquisa em andamento, 3).
- WOLF, W.J.; BAKER, P.L. Scanning electron microscopy of soybeans. Cereal Science Today, 5:124-130, 1972.
- YAKLICH, R.W. & KULIK, M.M. Evaluation of vigor tests in soybean seeds: relationship of the standard germination test, seedling vigor classification, seedling length and tetrazolium staining to field performance. Crop Science, Madison, 19(2):247-52. 1979.

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.D.; SILVEIRA, P. Sistemas de
Análise Estatística para Microcomputadores-SANEST.
Pelotas, UPPel, 1984 (Registro SEI nº 066060, Categoria
A)