



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA



TESTE DE TRATRAZÓLIO PARA DETECTAR A VIABILIDADE E VIGOR EM SEMENTES DE SOJA

Aluno: Helton Dantas Borges
Orientadora: Profa. Dra. Denise Garcia de Santana
Coorientador: Dr. Adílio de Sá Júnior

UBERLÂNDIA-MG
JUNHO
2018

HELTON DANTAS BORGES

**TESTE DE TRATRAZÓLIO PARA DETECTAR A VIABILIDADE E
VIGOR EM SEMENTES DE SOJA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Agronomia da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do grau
de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Denise Garcia de Santana
Coorientador: Adílio de Sá Júnior

UBERLÂNDIA-MG
JUNHO
2018

RESUMO

A soja [*Glycine max* (L) merril], é a *commodity* que mais se destaca em território brasileiro, segundo Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a soja deve alcançar uma produção de aproximadamente 113 milhões de toneladas na safra 2016/2017, ga-nho de 18,4% quando comparado à safra anterior. Para garantir a alta produção, as semen-tes de soja devem apresentar atributos físicos, fisiológicos, genéticos e sanitários. Vários testes são realizados em laboratórios, em que se busca verificar a qualidade da semente de acordo com os atributos e se os mesmos estão dentro dos padrões exigidos pela legislação. Entre esses testes destacam-se: análise de pureza, teste padrão de germinação, teste de sa-nidade, teste de tetrazólio, determinação do grau de umidade, peso volumétrico, massa de mil sementes e o teste de retenção de peneira. Apesar do teste de germinação ser o obriga-tório para averiguação da qualidade fisiológica das sementes, apresenta sérios problemas, relacionados à demora em sua execução e não fornece informações sobre o vigor de um de um lote de semente. Além disso, os resultados do teste podem ser constantemente masca-rados pelos fungos, como *Phomopsis* sp, e *Fusarium semitectum*. Em decorrência desses problemas, testes alternativos e rápidos vêm se destacando na indústria de sementes no Brasil, dentre eles o teste de tetrazólio, particularmente para a soja, devido à precisão, rapi-dez e grande número de características que este teste avalia. Para tanto, foram avaliados cinco cultivares de soja, com 100 sementes no teste de tetrazólio para análise da viabilidade e vigor e 200 sementes nos testes de germinação e vigor de plântulas. Todo o experimento foi conduzido em blocos com quatro repetições. Para todas as características foram execu-tados testes de Tukey a 5% de, em que as médias dos dados foram submetidas à análise de variância. Portanto, com as delimitações do teste de germinação e a eficácia do teste de tetrazólio em identificá-los, o objetivo foi relacionar os valores obtidos no teste de germi-nação com os alcançados no teste de tetrazólio. Os testes de vigor e viabilidade com tetra-zólio se caracterizaram como importante ferramenta para diagnosticar lotes de qualidades fisiológicas diferentes em sementes de soja, sendo eficaz na identificação de danos que ocasionaram a perda da qualidade nas sementes.

Palavras-chave: *Glycine max*; tetrazólio; germinação; viabilidade; vigor.

SUMÁRIO

RESUMO	3
1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1 Diagnóstico da qualidade em sementes de soja- DIACOM.....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 Teste de germinação.....	12
3.2 Avaliação do vigor de plântulas (plântulas fortes e fracas)	14
3.3 Matéria fresca e matéria seca das plântulas	14
3.4 Teste de tetrazólio	15
3.5 Análise estatística	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
5. CONCLUSÃO	20
REFERÊNCIAS	21

1. INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L) Merr.] é a principal leguminosa produzida no Brasil e no mundo. É a *commodity* que mais se destaca em território brasileiro, segundo a Companhia nacional de abastecimento, 2016 (CONAB). A soja deve alcançar produção de aproximadamente 113 milhões de toneladas na safra 2016/2017, ganho de 18,4% quando comparado à safra anterior, com área por volta de 34 milhões de hectares. No Brasil, destacam-se os estados de Mato Grosso, Paraná e Rio Grande do Sul, com maiores produções, respectivamente.

Para se garantir a produção, as sementes de soja devem apresentar atributos físicos, fisiológicos, genéticos e sanitários, como alta porcentagem de vigor, germinação e sanidade, bem como características de purezas físicas e varietais. Esses fatores contribuem para o desempenho das sementes no campo, decorrendo com o estabelecimento da população de plantas requeridas, aspecto essencial que contribui para que altas produtividades sejam atingidas (KRZYZANOWSKI et al., 2004). Dados de pesquisa comprovam que lavouras de soja originadas com sementes de elevada qualidade apresentam produtividades superiores. (KOLCHINSKI et al., 2005) Esses autores observaram que o uso de sementes de alto vigor assegura o aumento de 35% no rendimento de grãos, em relação ao uso de sementes de baixo vigor. Além disso, sementes de alto vigor propiciam a instalação de lavouras com plantas de alto vigor.

Quatro atributos são responsáveis pela qualidade da semente de soja, como serão descritos abaixo:

i) Pureza genética: essencial para que a semente apresente todo o potencial agrônomo, como plantas com altas produtividades, resistência a pragas, ciclo (cedo, intermediário ou tardio) e tipo de grão (KRZYZANOWSKI et al., 2008).

ii) Qualidade fisiológica: corresponde à eficiência máxima da semente em desempenhar funções vitais, indicadas pela sua germinação, vigor e longevidade (POPINIGIS, 1985).

iii) Qualidade física: corresponde à qualidade do lote devido a composição, isto é, a porcentagem de sementes de soja e de material inerte (impurezas), número de sementes de outras espécies cultivadas, silvestres e de sementes nocivas toleradas e proibidas (KRZYZANOWSKI et al., 2008).

iv) Qualidade sanitária: compreende a condição da semente quanto à frequência e ocorrência de vírus, fungos, bactérias, nematóides e a insetos vetores de doenças (POPINIGIS, 1985). Esses fatores são responsáveis por prejudicar a lavoura e consequentemente a produção, influenciando diretamente a germinação e o vigor da planta.

Portanto, a interação positiva desses quatro atributos contribui para que a semente seja de alta qualidade, tendo em vista que esta é o insumo agrícola mais importante que existe.

Vários testes são realizados em laboratórios credenciados pelo MAPA, em que se busca verificar a qualidade da semente de acordo com seus atributos e se os mesmos estão dentro dos padrões exigidos. Entre esses testes, destacam-se: análise de pureza, teste de germinação, teste de sanidade, teste de tetrazólio, determinação do grau de umidade, peso volumétrico, massa de mil sementes e o teste de retenção de peneira. Porém, nesse estudo dar-se-á ênfase aos testes de germinação e de tetrazólio.

Germinação de sementes tem sido mencionada por fisiologistas por meio da emergência e desenvolvimento de estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma plântula normal sob condições favoráveis de campo (BRASIL, 2009). Calcular essa porcentagem tem como objetivo, determinar o potencial máximo de germinação de um lote de sementes em promover a produção de plântula no campo, comparar a qualidade de diferentes lotes de sementes e estimar o valor de sementes para a semeadura.

No teste padrão de germinação, as plântulas são divididas em duas categorias: plântulas normais, que são aquelas que demonstram potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais, quando desenvolvidas sob condições favoráveis, e plântulas anormais, que são aquelas que não mostram potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas adultas em termos de campo.

O teste padrão de germinação, entretanto que é muito utilizado em laboratórios, apresenta sérios problemas, relacionados à demora em sua execução, e também não fornece informações sobre o vigor de um determinado lote de semente. Além disso, os resultados do teste podem ser constantemente mascarados pelos fungos como, *Phomopsis* sp e *Fusarium semitectum* (FRANÇA et al., 1988). Devido esses problemas do teste de germinação, testes alternativos e rápidos vêm se destacando na indústria de sementes do Brasil, dentre eles o teste de tetrazólio particularmente para a soja, devido a precisão, rapidez e grande número de características analisadas. O teste, além de diagnosticar a

viabilidade e o vigor dos lotes de sementes, oferece descrição minuciosa das possíveis causas responsáveis pela queda da qualidade, danos mecânicos, deterioração por umidade e danos de percevejo, que são os problemas mais comuns que afetam a qualidade fisiológica da semente de soja. Além desses danos o teste consegue detectar ainda danos por secagem, estresse hídrico e de geada (FRANÇA et al., 1998).

Vigor de sementes, segundo Popinigis (1985), é a soma de todos atributos da semente, que favorecem o rápido e uniforme estabelecimento de uma população inicial no campo. O teste de tetrazólio é um método bioquímico rápido, que fornece a viabilidade e o vigor das sementes, através da alteração da coloração dos tecidos vivos na presença da solução cloreto 2,3,5 trifeniltetrazólio, essa modificação na coloração reflete a atividade de enzimas específicas, que estão relacionados com a viabilidade e ao vigor das sementes (MARCOS, CICERO E SILVA, 1987). Portanto, com as delimitações do teste de germinação, e a eficácia do teste de tetrazólio em identificar e solucionar esses problemas o presente estudo tem como objetivo relacionar os valores obtidos no teste de germinação com os alcançados no teste de tetrazólio.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A uniformidade e velocidade de emergência de plântulas são fatores de extrema importância na cultura da soja para o seu máximo potencial produtivo, de forma que o desenvolvimento de técnicas para se avaliar as sementes tem ganhado constante atenção das empresas de tecnologia de sementes (MARCOS, KIKUTI e LIMA, 2009). Portanto o controle na qualidade de sementes deve se apresentar cada vez mais eficaz, em detrimento da concorrência e necessidades do mercado. Análises rápidas indicam referências do potencial fisiológico da semente que são relevantes na hora de tomar decisões em distintos processos na etapa de produção. Desse modo, o controle de qualidade abrange testes de germinação e de vigor de (FESSEL et al., 2010). A indicação do potencial fisiológico da semente somente com a germinação não é um método seguro sendo necessário o complemento por testes de vigor (BHERING et al., 2004).

A qualidade das sementes de lotes de soja é assegurada por intermédio de padrões mínimos de germinação, de purezas varietal e física e sanidade, requisitado por normas de produção e comercialização determinado pelo governo brasileiro (BRASIL, 2005).

Como mencionado no tópico anterior, germinação tem sido inferida, por

tecnologistas de sementes, como o potencial da semente em produzir uma plântula que, pelo aspecto das estruturas essenciais, apresente capacidade para produzir um indivíduo adulto sob condições favoráveis de campo. Os resultados do teste de germinação são de extrema importância para equiparar diferentes lotes de sementes para a comercialização e também para o cálculo de densidade de semeadura. Todavia, esse teste apresenta limitações, devido ao fato de ser realizado em laboratórios onde as condições são altamente favoráveis, permitindo assim que sementes deterioradas sejam capazes de originar plântulas normais, que embora fracas e de baixo vigor participem do resultado final (POPINIGIS, 1985).

Dentro da categoria de plântulas normais pode citar, i) as plântulas intactas que possuem todas as estruturas importantes bem desenvolvidas e sadias, ii) as plântulas com pequenos defeitos, que apesar de possuir alguma estrutura essencial com deficiência, apresentam um desenvolvimento aceitável e estável, iii) e as plântulas com infecção secundária, que são aquelas infectadas por fungos ou bactérias que a própria semente não foi à fonte da infecção (BRASIL, 2009).

Dentro da categoria de plântulas anormais pode citar, i) as plântulas danificadas que são aquelas que possuem uma estrutura primordial danificada, ou ausente, ii) plântulas deformadas, que possuem desenvolvimento frágil, ou com distúrbios fisiológicos, iii) e as plântulas deterioradas que apresentam alguma estrutura importante infectada a partir da própria semente, ou tão deterioradas que impeçam o desenvolvimento normal (BRASIL, 2009).

As sementes remanescentes do teste são classificadas como: sementes duras, que não absorvem água por um grande espaço de tempo, portanto não intumescidas; sementes dormentes são aquelas que embora possam estar viáveis, e absorver água ou intumescer, não germinam e nem apodrecem até o fim do teste. Além disso, há também sementes mortas que, no final do teste, apresentam-se atacadas por microrganismos, não demonstram início de germinação e tem aspecto de amolecida mortas, que embebem e apodrecem (BRASIL, 2009).

Devido ao uso abrangente do teste de germinação, outros fatores de qualidade de sementes não demonstravam maior interesse. Todavia, com o aumento da tecnologia na agricultura, em que a emergência, o crescimento e a maturação necessitam uniformidade para um bom manejo da cultura, outras características fisiológicas da semente passaram a ser avaliadas. Estudos demonstram que essas características atuam no estabelecimento da

cultura, por todo ciclo da planta, e consequentemente na produtividade. A soma dessas características é nomeado vigor da semente (POPINIGIS, 1985).

Com todas as limitações do teste de germinação, na década de 40 o teste de tetrazólio surgiu como alternativa, devido a sua rapidez e eficiência na determinação do vigor e da viabilidade, indicando causas negativas que afetam as sementes, como: deterioração por umidade, danos mecânicos e problemas com percevejos (FRANÇA et al., 1988). O teste de tetrazólio além de quantificar a viabilidade e o vigor das sementes, pode ser usado para indicar sementes que apresentam dormência no teste padrão de germinação, ou que germinem lentamente. É um teste bioquímico que pode ser utilizado quando as sementes precisam ser semeadas logo após a colheita, momento em que podem apresentar dormência, ou para solucionar problemas inesperados de plântulas anormais existentes em grandes números no teste de germinação (BRASIL, 2009).

Além dessa aplicabilidade já citada, o teste de tetrazólio pode ser utilizado em várias etapas do sistema de produção de sementes, na colheita, na recepção, antes e após o beneficiamento e secagem, bem como durante o armazenamento, tendo como objetivo o controle de qualidade. Ele tem sido aplicado com sucesso antes mesmo da colheita, cerca de um ou dois dias antes, em que se faz uma amostragem de plantas do campo de produção, trilhando as sementes de forma manual. Com essa avaliação averigua-se o patamar de vigor, viabilidade e da ocorrência de deterioração por umidade e danos por percevejos. Conforme os resultados podem ser decididos com segurança se o campo demonstra qualidade para ser colhido como semente ou grão. Isso resulta em significativa economia aos produtores de sementes, tendo em vista evitar despesas não necessárias com transportes, secagem, beneficiamento, embalagem e armazenamento de lotes que não apresentam características para ser comercializadas (FRANÇA et al., 1998).

O teste de tetrazólio fundamenta-se na atividade das enzimas desidrogenases que catalisam as reações respiratórias nas mitocôndrias, durante a glicólise e o ciclo de Krebs. Essas enzimas, especialmente a desidrogenase do ácido málico, reduzem o sal de tetrazólio (cloreto 2,3,5-trifeniltetrazólio ou TCT) nos tecidos vivos. Quando a semente de soja é colocada na solução incolor de TCT, esta é difundida pelos tecidos, ocasionando a reação de redução que em tecidos vivos resulta na formação de um composto vermelho, estável e não difusível, conhecido por trifênilformazan (FRANÇA et al., 1988). Isso aponta a atividade respiratória das mitocôndrias, definindo que há viabilidade celular e do tecido. Deste modo, a coloração derivada da reação é um indicativo positivo da viabilidade da

respiração a nível celular. Tecidos viáveis não reagem e, portanto, não são coloridos (FRANÇA et al., 1998).

Segundo Marcos, Cicero e Silva (1987), uma das principais características do teste de tetrazólio é a oportunidade de identificar problemas decorrentes com as sementes, descrito:

a) Injúrias mecânicas: danos por impactos, usualmente identificados pelo fato de ocorrer fraturas, de localização e profundidade distintas. Essas lesões são indicada por coloração vermelha-grená ou esbranquiçada, que Segundo ainda, França neto et al. (1998) esses danos são causados durante as operações de colheita, trilha, secagem, beneficiamento, transporte e semeadura das sementes de soja. Existem três tipos de danos mecânicos que são detectados com o teste de tetrazólio: abrasões, rachaduras e amassamentos.

b) Injúrias causadas por percevejo: lesões caracterizadas com uma confiada margem de segurança, de modo que a região atacada exhibe tecido de coloração esbranquiçada e aspecto pulverulento. O ataque mais rigoroso é detectado pela presença de lesões na superfície interna dos cotilédones. A profundidade e localização da injúria indicam a viabilidade da semente.

c) Danos provocados por temperatura excessiva e por umidade: as sementes apresentam estrias escuras ou esbranquiçadas encontrados na superfície dos cotilédones, em região contrária ao eixo embrionário. Isso se deve ao enrugamento dos cotilédones por sucessivas hidratações e desidratações ocorridas durante a maturação fisiológica. Estas lesões podem ocorrer também no eixo hipocótilo radícula.

Segundo França et al. (1998), ainda podem ocorrer danos por secagem excessiva, possuindo como características sementes que apresentam umidade abaixo de 10%. São identificados pela visualização de trincas transversais nos cotilédones, sempre no mesmo local, e quando secada abundantemente, a semente fica sujeita a quebrar quando sofre um impacto mecânico.

O teste de tetrazólio no Brasil repercute em relação aos aspectos quantitativos e qualitativos, pois quando executado junto a outros testes, tem mostrado à comercialização de lotes com bons padrões de qualidade. Isso resulta num sistema de controle de alta confiabilidade, confirmando maiores lucros aos produtores de sementes e grãos, por intermédio de sementes de alta qualidade e custo baixo (FRANÇA et al., 1998).

2.1 Diagnóstico da qualidade em sementes de soja- DIACOM

Devido à demanda por sementes de alta qualidade em um sistema de controle rápido e eficiente, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), desenvolveu a tecnologia conhecida por Diagnóstico Completo de Qualidade da Semente de Soja (DIACOM). Essa tecnologia foi possível pela sobreposição das áreas de Patologia e Tecnologia de sementes (FRANÇA e HENNING, 1992).

Altos teores de umidade e temperatura, na fase de maturação e colheita das sementes em campo, podem oferecer condições favoráveis ao desenvolvimento dos fungos *Phomopsis* spp e *Fusarium semitectum*. Quando ocorre essa situação, os resultados de germinação, utilizando-se o papel de filtro Germitest podem ser reduzidos radicalmente. No entanto, se esse lote de sementes apresentarem viabilidade e vigor nos testes de tetrazólio, as sementes são submetidas ao teste de germinação em areia ou solo, podendo desenvolver-se adequadamente (FRANÇA e HENNING, 1992). Segundo Henning e França e Neto (1980) e França e Neto e West (1989), isto ocorre devido à maioria das vezes esses fungos se encontrem localizados no tegumento da semente, sendo incomum atingir os cotilédones ou o eixo embrionário. Esses fungos atacam as sementes no final do ciclo conseguindo, infectá-las apenas superficialmente. Portanto, no teste de rolo de papel as sementes ficam aderidas permanentemente facilitando o contato entre o tegumento infectado, os cotilédones e o eixo embrionário, o que reflete negativamente no resultado. Diferentemente dos testes em que se utiliza areia ou solo, os tegumentos infectados são deixados no substrato durante a sua emergência, deste modo às plântulas ficam livres dos efeitos causados pelo tegumento infectado, evitando assim que lotes de boa qualidade sejam descartados. Com estes resultados, os patógenos são identificados e o tratamento de sementes é recomendado ao produtor. Segundo França Neto et al. (1988), o teste de tetrazólio oferece condições para indicar as causas de sementes de baixa qualidade, como danos por percevejos, deterioração por umidade, e/ou danos mecânicos. Portanto, esse método é uma ferramenta importante para o sistema de controle de qualidade de sementes.

O DIACOM demonstra o real valor de germinação das sementes, além do seu vigor, e apontam as causas principais que reduzem a qualidade dos lotes de sementes, proporcionando correções (FRANÇA e HENNING, 1992). O método consegue identificar facilmente problemas originados por percevejos em lavouras de soja. Isso significa que não houve um bom manejo de pragas na área para a produção de sementes. Depois dessa

verificação, tal adversidade pode ser corrigida para as safras posteriores (FRANÇA e HENNING, 1992).

Outra adversidade detectada pelo DIACOM se refere aos altos índices de deterioração por umidade. Isto aponta influências desfavoráveis de condições climáticas durante as fases de maturação e de colheita, ou seja, as sementes foram produzidas em locais inadequados, ou as cultivares utilizadas não eram as mais recomendadas para determinada época do ano (FRANÇA e HENNING, 1992).

Outro fator que vem prejudicando a produção de sementes de alta qualidade são os danos mecânicos (trincas e abrasões). O controle de sua ocorrência através do DIACOM, no decorrer da colheita e do beneficiamento, auxilia identificar os pontos de estrangulamento dessas fases no processo produtivo (FRANÇA e HENNING, 1992). Logo, a implantação dos métodos do DIACOM, pode refletir vantagem econômica para a indústria de sementes. Além desse ganho financeiro, o DIACOM proporciona a instalação de um sistema avançado no controle de sementes qualidade, que auxilia o produtor a como resolver problemas distintos dentro da lavoura, favorecendo um melhor desempenho da mesma. Com a adoção desse sistema é possível evitar o envio um lote de sementes que está fora dos padrões de normalidade, evitando custos desnecessários com transporte, secagem, beneficiamento, embalagem e armazenagem (FRANÇA e HENNING, 1992).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os dois testes (germinação e tetrazólio) foram realizado no Laboratório de Análises de Sementes (LASEM), do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), situada no Campus Umuarama, Bloco 4C, na cidade de Uberlândia – MG.

Em ambos os testes foram utilizados cinco cultivares de soja, sendo o lote 1, 3 e 5 fornecidos por uma empresa, e o lote 2 e 4 por outra.

3.1 Teste de germinação

O teste de germinação foi realizado para determinar a qualidade fisiológica das distintas cultivares de soja. Com os mesmos tratamentos também foi realizado avaliação da matéria fresca e seca das plântulas, para determinação do vigor.

Foram utilizadas 200 sementes em cada parcela com quatro rolos, distribuídas em

quatro blocos. Para tanto, utilizou-se de placas perfuradas próprias para soja, sobre duas folhas de papel para germinação, previamente umedecidas com quantidade de água destilada, na proporção de 2,5 vezes a massa do papel não hidratado de acordo com as Regras para Análise de Sementes RAS (Brasil, 2009) e mantido em germinador, regulado na temperatura de 25°C e foto período de oito horas de luz). Desta forma, as sementes são distribuídas nas folhas de forma uniforme e regular, diminuindo a competição e contaminação entre as sementes e as plântulas em desenvolvimento (Figura 1a).

As avaliações foram realizadas aos quatro dias, após o início do teste, sendo consideradas germinadas todas as sementes que apresentarem plântulas normais na primeira contagem, que foi e expresso em porcentagem (Figura 1b), conforme a RAS (BRASIL, 2009).



Figura 1: Teste de germinação – montagem. Fonte: BORGES, 2017



Figura 2: Teste de germinação – avaliação. Fonte: BORGES, 2017

3.2 Avaliação do vigor de plântulas (plântulas fortes e fracas)

Junto ao teste de germinação, houve a classificação das plântulas normais nas classes de normais fortes, portanto mais vigorosas e normais fracas consequentemente menos vigorosas. Na primeira contagem, quatro dias após a semeadura, durante o teste de germinação, todas as plântulas normais que se demonstraram adequadamente desenvolvidas morfológicamente perfeitas, ou seja, apresentando todas as estruturas essenciais (sistema radicular, hipocótilo, cotilédones e radícula) e livres de lesões ou rachaduras foram removidas e classificadas como fortes. Plântulas que não apresentaram tais requisitos permaneceram no teste até a última contagem que ocorreu no oitavo dia após a semeadura. Durante a última leitura todas as plântulas que sobraram são avaliadas em normais fortes ou normais fracas. As sementes que não germinaram foram classificadas como duras ou mortas (VIEIRA, 1994).

3.3 Matéria fresca e matéria seca das plântulas

Após a avaliação da germinação, as plântulas normais foram separadas dos cotilédones e pesadas em balança de precisão para determinação da matéria fresca. Após a pesagem, as mesmas foram colocadas em sacos de papel e submetidas a estufa de circulação forçada de ar, a 65° C até peso constante. Após três medições com peso

constante foi determinado o peso seco das amostras para cálculo da matéria seca. Os resultados foram expressos em gramas de matéria fresca e seca por plântula.

3.4 Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio foi realizado para classificar as sementes de acordo com a viabilidade e o vigor, também para detectar possíveis causas que resultaram perda de viabilidade dos distintos cultivares de soja, por consequência da deterioração por umidade, injúrias mecânicas, danos por temperatura excessiva, danos por percevejos e danos por secagem excessiva.

As cinco cultivares foram analisadas em quatro blocos com duas repetições de 50 sementes, totalizando 100 sementes por bloco e 400 sementes por cultivar no total.

No dia anterior à leitura das sementes, as mesmas foram separadas através de placas contadoras específicas para sementes de soja, colocadas em copos de plásticos descartáveis de (300 mL) e submersas em água para que houvesse um pré-umedecimento o que ativa a respiração, amolece os tecidos com finalidade de facilitar os corte e a absorção do sal de tetrazólio. Posteriormente, as sementes foram colocadas à temperatura de 25°C e deixadas por de 16 horas nessas condições.

No dia seguinte, a água foi drenada e as sementes submersas em solução de tetrazólio á 0,075% como sugerido por França e neto et al. (1998). Com essa concentração há uma melhor identificação dos danos mecânicos recentes, oriundos de abrasão. Essa solução foi preparada utilizando-se 75 mL da solução estoque à 1% adicionada a 925 mL de água destilada. Posteriormente, as sementes foram acondicionadas em estufa a 30°C, por quatro horas, para acelerar a reação bioquímica nos tecidos. Esse processo foi feito no escuro, devido o sal de tetrazólio ser sensível a luz, podendo ser reduzido, ocasionando uma coloração indevida das sementes (BRASIL, 2009).

Após a retirada das sementes da câmara, as mesmas foram lavadas em água corrente e mantidas em água até o final da avaliação, para a turgidez fosse mantida (BRASIL, 2009). Nessa avaliação foram retirados os tegumentos e, posteriormente com auxílio de um bisturi, as sementes foram seccionadas longitudinalmente através do centro do eixo embrionário. Em seguida os cotilédones foram separados deixando exposta a região vascular para avaliação de todos os tipos de danos (FRANÇA NETO et al., 1998). Para esta variável, as sementes recém-seccionadas foram colocadas em bandejas de plástico cobertas por uma folha de papel para germinação e avaliadas com auxílio de lupa

de mesa (4x) aumentando a luminosidade para a leitura.

No momento da avaliação, as características de intensidade de cor são de suma importância, permitindo a diferenciação para a classificação das sementes em relação ao vigor e viabilidade, sementes com coloração vermelho carmin apresentam tecidos vivos e vigorosos, sementes de coloração vermelho carmin forte demonstram tecidos em deterioração e sementes com cor branco leitoso apresentam tecidos mortos. Porém, vale destacar, que as partes internas dos cotilédones se apresentam descoloridas, portanto, de cor branca (FRANÇA NETO et al., 1988).

As sementes foram classificadas em oito níveis de viabilidade, de acordo com o seu vigor segundo França Neto et al. (1988) (1- mais alto vigor, 2- alto vigor, 3- médio vigor, 4- baixo vigor, 5- vigor muito baixo, 6- não viável, 7- não viável e 8- semente morta). Posteriormente, tendo como base os valores obtidos nesta primeira avaliação as sementes foram classificadas em três categorias, alto vigor (classificadas de 1 a 3), viabilidade (classificadas de 1 a 5), e não viáveis (classificadas de 6 a 8).

3.5 Análise estatística

Para todas as variáveis analisadas foram executados testes estáticos, em que a média dos dados foi submetida à análise de variância e depois, ao teste de Tukey a 5% de significância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1: Médias de cinco cultivares de *Glycine max* (L) Merr. submetidas a testes fisiológicos e bioquímicos

Cultivares	Características	1	2	3	4	5	Cv(%)
Germinação		90 a	59 c	90 a	81b	87 ab	3,5
Vigor de plântulas	Forte	80,7 a	26,31 d	83,6 a	54,1 c	70,3 b	6,5
	Fraca	9,5 ab	33,1 d	6 a	26,7 cd	17,5 bc	22,7
	Vigor	80,5 a	47 c	77,7 ab	1,2 d	65,7 b	10,9
Tetrazólio	Viabilidade	90,5 a	63,5 b	88,2 a	19 c	84,5 a	8,3
	Não viáveis	9,5 a	36,5 b	11,7 a	81 c	15,5 a	18,5
Massa	Fresca	45,2 ab	25,5 c	52,1 a	39,8 b	40,2 b	12,6
	Seca	4 b	2 c	5,5 a	3,7 b	3,9 b	11,5

Médias seguidas de letras minúsculas na linha diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os lotes 1, 3 e 5 demonstraram germinação superiores aos demais, sendo o lote 2 o

que apresentou pior desempenho fisiológico (tabela 1), abaixo do recomendado para a comercialização que é de 80%, segundo a Instrução Normativa nº 25, de 16 de dezembro de 2005 (BRASIL, 2005). O fato de muitas sementes desta cultivar não germinarem se deu pela elevada ocorrência de sementes duras e mortas.

Os lotes 1, 3 e 5 também apresentaram melhor desempenho de vitalidade, havendo compatibilidade positiva com o teste de germinação (tabela 1). Porém, o lote 4, que apresentou uma germinação acima de 80%, foi o que demonstrou pior viabilidade, devido as sementes deste lote apresentarem danos mecânicos latentes, que ainda não influenciaram no teste de germinação, ou devido ao fato que o teste de tetrazólio requer um conhecimento aprofundado do analista. Segundo Marcos Filho (2005), os danos latentes se apresentam quando as sementes são manejadas com umidade elevada, ocasionando lesões que dificilmente são observadas na hora da colheita, mas tem evolução evidente durante o período de armazenamento colaborando de forma considerável na deterioração da semente.

Fica evidente também a qualidade fisiológica inferior do lote 2, que além de possuir baixo percentual de germinação, apresentou sementes com baixa viabilidade devido aos danos por percevejo, deterioração por umidade e danos mecânicos, sendo a maioria classificadas como não viáveis. O mesmo foi verificado por Costa et. al (2005), que trabalharam com sementes de soja em várias regiões do Brasil, sendo estes fatores os principais causadores de sementes de baixa qualidade fisiológica, podendo facilmente ser identificados pelo teste de tetrazólio.

Duarte e Junior (2011) verificaram em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*), a relação entre a porcentagem do teste de germinação que foi de 65%, e do teste de tetrazólio, que apresentou 74%. Segundo os mesmos, o teste de tetrazólio superestimou a viabilidade das amostras testadas, uma vez que a viabilidade pelo referido teste demonstra uma estimativa da sua potencialidade, não se obtendo valores a partir do crescimento de plântulas.

Lima et al. (2010), constatou em seu estudo com sementes de pepino (*Cucumis sativus*) correlação positiva entre o teste de tetrazólio com o teste de germinação, ambos os testes destacaram os mesmos lotes com maior viabilidade. O presente estudo apresenta essa característica para os lotes 1, 3 e 5.

Schuab et al. (2002), trabalhando com sementes de soja, conseguiu identificar as melhores cultivares em relação a viabilidade de forma semelhante, correlacionando o teste de germinação com o teste de tetrazólio, o mesmo acontece com o este experimento que os

lotes com maior percentual de germinação foram os mesmos que obtiveram viabilidade superior no teste de tetrazólio.

Junto ao teste de germinação foi realizado o teste de plântulas fortes e fracas para a verificação do vigor, os lotes 1 e 3 obtiveram os melhores resultados apresentando plântulas bem desenvolvidas, com todas as estruturas essenciais presentes, demonstrando potencial para o desenvolvimento em condições de campo. Pode-se também observar que o lote 4, apesar de sua germinação ter sido superior a 80%, demonstrou uma quantidade alta de plântulas fracas demonstrando os primeiros efeitos dos danos mecânicos latentes. Segundo Lopes et al. (2002), a utilização de sementes de baixa qualidade, juntamente com condições adversas do ambiente, tem como consequência, baixa porcentagem de germinação e menor velocidade de emergência das plantas. Ao contrário sementes que possuem alto vigor, frequentemente, demonstram germinação rápida e uniforme, conseguindo suportar as adversidades do ambiente com mais êxito.

Verificou-se também o vigor pelo teste de tetrazólio, na classificação em categorias para sementes de soja, descrita por França-Neto et al. (1998). As sementes do lote 1 e 3 apresentaram vigor alto, o lote 5 se mostrou com vigor médio, enquanto o lote 2 e 4 demonstraram vigor muito baixo. Novamente, os lotes 1 e 3 se sobressaíram em relação aos demais, ficando evidente a boa qualidade fisiológica destas cultivares, que tiveram os melhores resultados em todos os testes realizados, comprovando serem lotes indicados para a semeadura com características essenciais, como por exemplo, rápida germinação, uniformidade de emergência e rápido crescimento de plântulas. Kolchinsk, Schuch e Peske (2005) relataram que plantas originadas de sementes com alto vigor demonstraram maior índice de área foliar, produção de matéria seca e rendimentos de sementes, quando comparadas com plantas oriundas de sementes de baixo vigor.

Fica evidente também a má qualidade dos lotes 2 e 4 devido aos vários danos que foram constatados nestas cultivares, indicando que esses lotes são impróprios para o semeio. Holtz e Reis (2013) constataram em sementes de soja que atraso na colheita em campos de produção de sementes afetou significativamente o vigor devido a deterioração das mesmas. Isso pode ter ocorrido com o lote 4, que apresentou um vigor de nível muito baixo. Costa et al. (2003) mostraram que lesões ocasionadas por percevejos, com ocorrência superior a 5% em lotes de soja, comprometem o vigor. Isso ficou nítido no presente estudo, no lote 2 que dos diversos danos apresentados por lesões ocasionadas por percevejos se destacaram de forma significativa. Segundo Pinto et al. (2011), campos de

produção de sementes tem vigor influenciado quando são semeados em épocas tardias, devido aos ataques de percevejo, que migram para áreas onde o ciclo da cultura não se completou. Já o lote 5 apresentou resultados intermediários, também mostrando ser um lote com potencial para a semeadura.

Segundo Panobianco et al. (2012), o teste de tetrazólio conseguiu diferenciar o vigor das cultivares de soja convencional transgênica. Ávila et al. (2007), conseguiu resultados semelhantes, diferenciando o vigor de lotes de soja produzidas em regiões diferentes no estado do Paraná.

No teste de massa seca e fresca, realizadas com as plântulas normais, o lote que se destacou com os melhores resultados foi o lote 3. Isso se deve ao fato que as plântulas desta cultivar apresentaram um excelente resultado de desenvolvimento de suas estruturas aéreas e radiculares, por conseguinte um melhor desenvolvimento das plântulas.

5. CONCLUSÃO

Os testes de vigor e viabilidade com tetrazólio se caracterizaram como importante ferramenta para diagnosticar lotes de qualidades fisiológicas diferentes em sementes de soja, sendo eficaz na identificação de danos que ocasionaram a perda da qualidade nas sementes.

REFERÊNCIAS

- AVILA, Marizangela Rizzatti et al. Componentes do rendimento, teores de isoflavonas, proteínas, óleo e qualidade de sementes de soja. **Rev. bras. sementes**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 111-127, 2007. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010131222007000300014&lng=en&nrm=iso>. Acessos em 20 jun. 2018.
- BHERING, M.C. et al. Avaliação do vigor de sementes de melão pelo teste de deterioração controlada. **Rev. bras. sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 125-129, 2004. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222004000100019&lng=pt&nrm=iso>. Acessos em 20 nov. 2017
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, p. 148-151, 155-156, 198, 226. 2009
- CARVALHO, T. C. de et al. Comparação da qualidade fisiológica de sementes de soja convencional e de sua derivada transgênica. **Rev. bras. sementes**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 164-170, 2012. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010131222012000100020&lng=en&nrm=iso>. Acessado em 20 jun 2018.
- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Companhia Nacional de Abastecimento, Brasília, v.1, n.1, p. 97. 2013;
- COSTA, N. P. da et al. Perfil dos aspectos físicos, fisiológicos e químicos de sementes de soja produzidas em seis regiões do Brasil. **Rev. bras. sementes**, Pelotas, v. 27, n. 2, p. 172-181, Dec. 2005. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222005000200025&lng=en&nrm=iso>. Acessos em 11 jun. 2018;
- COSTA, N. P. da et al. Qualidade fisiológica, física e sanitária de sementes de soja produzidas no Brasil. **Rev. bras. sementes**, Pelotas, v. 25, n. 1, p. 128-132, July 2003. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222003000100020&lng=en&nrm=iso>. Acessos em 17 jun 2018;
- DUARTE, L. T.; LOBO JUNIOR, M. **Comparação do vigor e da viabilidade de sementes de feijão comum pelos testes de germinação em papel e tetrazólio**. Congresso Nacional De Pesquisa De Feijão, 10. Anais. Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 2011. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/54410/1/SA9.pdf>>. Acessos em 18 jun. 2018;
- FESSEL, S.A. et al. Teste de condutividade elétrica em sementes de soja armazenadas sob diferentes temperaturas. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 1, p. 207-214, 2010. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87052010000100026&lng=pt&nrm=iso>. Acessos em 20 nov. 2017;
- FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. Diacom: **Diagnóstico Completo da Qualidade da Semente de Soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, Circular Técnica, 10. P. 9-14, 1992;

FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. da. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, Documentos, 116, p. 8-18, 22-24, 58, 62. 1998

FRANÇA NETO, J.B.; PEREIRA, L. A. G.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. da; HENNING, A. A. **Metodologia do teste de tetrazólio em semente de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, Documentos, 32, p. 9-10. 1988

FRANÇA NETO, J.B.; WEST, S.H. Problems in evaluating viability of soybean seed infected with *Phomopsis* spp. **Journal of Seed Technology**, v. 13, p. 122-135, 1989. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/120973/1/PROBLEMS-IN-EVALUATING-VIABILITY-OF-SOYBEAN-SEED.pdf>>. Acessos em 17 jun. 2018

HENNING, A.A.; FRANÇA NETO, J. B. Problemas na avaliação da germinação de sementes de soja com alta incidência de *Phomopsis* sp. **Rev. Bras. Sementes**, v. 2, nº 5, p. 9-22, 1980;

HOLTZ, V.; REIS, E. F. dos. Perdas na colheita mecanizada de soja: uma análise quantitativa e qualitativa. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 3, p. 347-353, jun. 2013. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-737X2013000300007&lng=pt&nrm=iso>. Acessos em 16 jun. 2018

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T. Vigor de sementes e competição intra-específica em soja. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1248-1256, Dez. 2005. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782005000600004&lng=en&nrm=iso>. Acessos em 15 jun. 2018;

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A.; COSTA, N. P. da. **A semente de soja como tecnologia e base para altas produtividades – Série Sementes**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, Circular Técnica, 55. P. 1-3, 2008

LIMA, L. B. de; PINTO, T. L. F.; NOVENBRE, A. D. L. C. Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de pepino pelo teste de tetrazólio. **Rev. bras. sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 60-68, 2010. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222010000100007&lng=en&nrm=iso>. Acessos em 17 jun. 2018;

LOPES, J. C. et al. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja produzidas em Alegre-ES. **Rev. bras. sementes**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 51-58, 2002. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222002000100008&lng=pt&nrm=iso>. Acessos em 30 nov. 2017;

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

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W. R. da. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz – FEALQ, p. 111, 130, 133. 1987;

MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A. L. P.; LIMA, L. B. de. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Rev. bras. sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 102-112, 2009. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222009000100012&lng=pt&nrm=iso>. Acessos em 22 nov. 2017;

POPINIGIS, FLÁVIO. **Fisiologia da semente**. Brasília: Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior/ Ministério da Educação e Cultura (ABEAS/MEC), 2ª.ed., p. 157, 194-195. 1985;

SCHUAB, S. R. P. et al. Utilização da taxa de crescimento das plântulas na avaliação do vigor de sementes de soja. **Rev. bras. sementes**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 90-95, 2002 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222002000200015&lng=en&nrm=iso>. Acessos em 12 jun. 2018.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 164p, 1994.