

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS**

**MÉTODOS DE PRÉ-CONDICIONAMENTO DE  
SEMENTES DE SOJA: INFLUÊNCIA NA REDUÇÃO DA  
ANORMALIDADE DE PLÂNTULAS**

**LISIANE SARTORI PEREIRA**

**DOURADOS  
MATO GROSSO DO SUL  
2019**

**MÉTODOS DE PRÉ-CONDICIONAMENTO DE SEMENTES DE  
SOJA: INFLUÊNCIA NA REDUÇÃO DA ANORMALIDADE DE  
PLÂNTULAS**

**LISIANE SARTORI PEREIRA**  
Engenheira Agrônoma

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. THATIANA ELISA MASETTO

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Dourados  
Mato Grosso do Sul  
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

P436m Pereira, Lisiane Sartori  
Métodos de pré-condicionamento de sementes de soja: influência na redução da anormalidade de plântulas [recurso eletrônico] / Lisiane Sartori Pereira. -- 2019.  
Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Tathiana Elisa Masetto.  
Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.  
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:  
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Glycine max. 2. Teste de germinação. 3. Danos por embebição. 4. Alterações celulares. I. Masetto, Tathiana Elisa. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

**MÉTODOS DE PRÉ-CONDICIONAMENTO DE SEMENTES DE SOJA:  
INFLUÊNCIA NA REDUÇÃO DA ANORMALIDADE DE PLÂNTULAS**

por

Lisiane Sartori Pereira

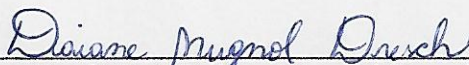
Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de  
MESTRE EM AGRONOMIA

Aprovada em: 26/04/2019



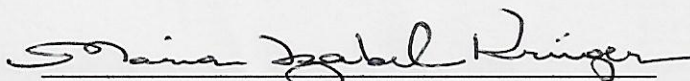
---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tathiana Elisa Masetto  
UFGD  
(Orientadora)



---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daiane Mugnol Dresch  
UFGD



---

Dr<sup>a</sup>. Maria Izabel Krüger Giurizatto  
IAGRO-MS

A DEUS,

Aos meus pais, que tanto apoiaram e incentivaram o  
meu crescimento profissional,

**DEDICO.**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, que sempre esteve comigo me iluminando e abençoando com saúde e determinação para sempre lutar por meus objetivos.

A minha família, especialmente aos meus pais Dioraci e Renita e meus irmãos Cristiane e Fernando que sempre me incentivaram, sendo de fundamental importância pois sem eles não teria chegado até aqui.

À Universidade Federal da Grande Dourados pela oportunidade e suporte concedido durante o Programa de Mestrado em Agronomia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo apoio financeiro durante a pesquisa.

À Profa. Dra. Tathiana Elisa Masetto, por me orientar em todos momentos, pela paciência e pelos ensinamentos.

A todos os professores do Programa de Pós- Graduação em Agronomia, por transmitirem todos os seus conhecimentos.

Ao LASO-MS/IAGRO, em especial ao técnico Vicente e a Dra. Maria Izabel, por todo o auxílio.

Aos colegas do Laboratório de Tecnologia de Sementes que me auxiliaram quando necessário.

Ao LBMGCA, pela disponibilidade e por todo o auxílio prestado com as análises citológicas.

Enfim, a todas as pessoas que, por meio direto ou indireto contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

## SUMÁRIO

|   | PÁGINA    |
|---|-----------|
| LISTA DE FIGURAS.....                                   | vii       |
| LISTA DE QUADROS.....                                   | ix        |
| RESUMO.....   | x         |
| ABSTRACT.....   | xi        |
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>                              | <b>12</b> |
| <b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                    | <b>14</b> |
| 2.1 Qualidade de sementes.....                          | 14        |
| 2.2 Germinação de sementes.....                         | 16        |
| 2.3 Danos por embebição em sementes.....                | 17        |
| <b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                       | <b>22</b> |
| 3.1 Caracterização inicial dos lotes.....               | 22        |
| 3.1.1 Teor de água.....                                 | 22        |
| 3.1.2 Teste de germinação.....                          | 22        |
| 3.1.3 IVG.....  | 22        |
| 3.1.4 Teste de frio.....                                | 23        |
| 3.1.5 Envelhecimento acelerado.....                     | 23        |
| 3.1.6 Emergência em campo.....                          | 23        |
| 3.1.7 IVE.....  | 23        |
| 3.1.8 Condutividade elétrica.....                       | 24        |
| 3.1.9 Comprimento de parte aérea e raiz.....            | 24        |
| 3.1.10 Massa de matéria seca de parte aérea e raiz..... | 24        |
| 3.2 Métodos de pré-condicionamento.....                 | 24        |
| 3.2.1 Método de imersão em água.....                    | 24        |
| 3.2.2 Método de substrato úmido.....                    | 25        |
| 3.2.3 Método de atmosfera úmida.....                    | 25        |
| 3.3 Características avaliadas.....                      | 25        |
| 3.3.1 Teste de germinação.....                          | 25        |
| 3.3.2 Emergência em campo.....                          | 25        |
| 3.3.3 Condutividade elétrica.....                       | 25        |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.3.4 Curva de absorção de água.....  | 26        |
| 3.3.5 Análise citológica.....   | 26        |
| 3.3.5.1 Preparação das lâminas.....   | 26        |
| 3.3.5.2 Características avaliadas.....                                      | 26        |
| 3.4 Procedimento estatístico.....   | 27        |
| <b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                       | <b>28</b> |
| 4.1 Caracterização inicial dos lotes.....                                   | 28        |
| 4.2 Métodos de pré- condicionamento de sementes – cultivar M6410.....       | 32        |
| 4.3 Métodos de pré- condicionamento de sementes – cultivar BMX Potência RR. | 45        |
| 4.4 Curva de absorção de água .....   | 51        |
| 4.5 Análise citológica.....   | 55        |
| <b>5. CONCLUSÕES.....</b>   | <b>59</b> |
| <b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                                   | <b>60</b> |
| <b>7. ANEXOS.....</b>   | <b>66</b> |



## LISTA DE FIGURAS

### PÁGINA

|   |    |
|---|----|
| FIGURA 1. Germinação (%) de sementes de soja da cv. M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos.....  | 34 |
| FIGURA 2. Germinação (%) de sementes de soja da cv. M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas.....  | 35 |
| FIGURA 3. Plântulas anormais de soja provenientes de sementes cv. M6410 IPRO sujeitas aos danos por embebição rápida.....   | 36 |
| FIGURA 4. Plântulas anormais (%) de sementes de soja da cv. M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos.....  | 38 |
| FIGURA 5. Plântulas anormais (%) de soja cv. M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas.....   | 39 |
| FIGURA 6. Emergência em campo (%) de soja cv. M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes período.....   | 41 |
| FIGURA 7. Emergência em campo (%) de soja cv. M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas.....  | 42 |
| FIGURA 8. Condutividade elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) de sementes de soja da cv. M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos.....     | 44 |
| FIGURA 9. Condutividade elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) de sementes de soja da cv. M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas..... | 45 |
| FIGURA 10. Germinação (%) de sementes de soja da cv. BMX Potência RR submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos.....  | 46 |

|  |    |
|--|----|
| FIGURA 11. Plântulas anormais (%) de sementes de soja da cv. BMX Potência RR submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos.....   | 47 |
| FIGURA 12. Plântulas anormais (%) de sementes de soja da cv. BMX Potência submetidas ao pré-condicionamento em diferentes períodos e temperaturas.....   | 47 |
| FIGURA 13. Emergência em campo (%) de soja da cv. BMX Potência RR submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos.....  | 49 |
| FIGURA 14. Emergência em campo (%) de soja da cv. BMX Potência RR submetidas submetidas ao pré-condicionamento em diferentes períodos (h) e temperaturas (C°).....   | 49 |
| FIGURA 15. Emergência em campo (%) de soja da cv. BMX Potência RR submetidas submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas.....   | 50 |
| FIGURA 16. Condutividade elétrica (CE) ( $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) de sementes de soja da cultivar BMX Potência RR submetidas submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas..... | 51 |
| FIGURA 17. Curva de absorção de água de sementes de soja da cv. M6410 IPRO durante o pré-condicionamentos em diferentes métodos e temperaturas.....  | 52 |
| FIGURA 18. Curva de absorção de água de sementes de soja da cv. BMX Potência RR, durante o pré-condicionamento em diferentes métodos e temperaturas.....   | 54 |
| FIGURA 19. Células meristemáticas de soja com divisão regular e com alterações celulares. Escala: $0,055\mu\text{m}$ .....   | 57 |

**LISTA DE QUADROS**

|  | PÁGINA |
|--|--------|
| QUADRO 1. Caracterização da qualidade fisiológica dos lotes de sementes de soja da cultivar M6410 IPRO.....  | 30     |
| QUADRO 2. Caracterização da qualidade fisiológica dos lotes de sementes de soja da cultivar BMX POTÊNCIA RR.....   | 31     |
| QUADRO 3. Análise citológica de sementes de soja das cultivares M6410 IPRO e BMX Potência RR, submetidas a diferentes métodos de pré-condicionamento por 24 horas.....                               | 56     |
| QUADRO 4. Resumo da análise variância da caracterização dos lotes da cultivar M6410 IPRO.....  | 66     |
| QUADRO 5. Resumo da análise variância da caracterização dos lotes da cultivar BMX POTÊNCIA RR.....   | 67     |
| QUADRO 6. Resumo da análise de variância dos métodos de pré-condicionamentos de sementes de soja da cultivar M610 IPRO.....  | 68     |
| QUADRO 7. Resumo da análise de variância dos métodos de pré-condicionamentos de sementes de soja da cultivar BMX POTÊNCIA RR.....  | 69     |
| QUADRO 8. Resumo da análise de variância da análise citológica de sementes de soja das cultivares M6410 IPRO e BMX Potência RR, submetidas a diferentes métodos de pré-condicionamento 24 horas..... | 70     |

## MÉTODOS DE PRÉ-CONDICIONAMENTO DE SEMENTES DE SOJA: INFLUÊNCIA NA REDUÇÃO DA ANORMALIDADE DE PLÂNTULAS

### RESUMO

PEREIRA, L. S. **Métodos de pré-condicionamento de sementes de soja: influência na redução da anormalidade de plântulas.** 2019. 70 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS.

O teste de germinação tem como objetivo definir o percentual de sementes aptas a formarem plântulas sob condições favoráveis de campo. Porém, os resultados do teste de germinação de sementes de soja realizados em papel podem ser afetados negativamente pelo fenômeno conhecido como “dano por embebição rápida”. Objetivou-se com o presente trabalho avaliar os métodos, períodos de exposição das sementes e temperaturas no pré-condicionamento de sementes visando reduzir a anormalidades de plântulas nos testes de germinação de sementes de soja. Para a realização do experimento foram utilizados cinco lotes de sementes da cultivar M6410 IPRO e, para efeito de comparação com sementes tolerantes aos danos por embebição foram utilizados cinco lotes da cultivar BMX Potência RR. Inicialmente, o potencial fisiológico dos lotes foi caracterizado por meio de testes de germinação e vigor. As sementes foram submetidas aos seguintes métodos de pré-condicionamento: atmosfera úmida (AU), substrato úmido (SU) e imersão direta em água (IA) durante 4, 6, 8, 16 e 24 horas, sob as temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C. Posteriormente, foi determinado o teor de água e a curva de absorção de água das sementes. As sementes foram avaliadas quanto à germinação, condutividade elétrica e emergência em campo. Paralelamente, foi realizada a avaliação citológica a partir do meristema radicular das sementes submetidas a cada método de pré-condicionamento. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições e os resultados foram submetidos à análise de variância. Verificou-se que o pré-condicionamento por meio do método de atmosfera úmida influencia positivamente no percentual de plântulas normais das sementes de soja da cultivar M6410 IPRO. Por outro lado, o método de imersão direta em água acentuou os danos por embebição rápida em sementes de soja, provocando o aumento do percentual de plântulas anormais, caracterizadas pelo estrangulamento e encurtamento da raiz principal. Os danos por embebição em sementes de soja estão associados às alterações na morfologia celular e ciclo mitótico, como a presença de anormalidades cromossômicas, redução do tamanho dos núcleos, brotos nucleares e defeitos no ciclo mitótico.

**Palavras-chave:** *Glycine max.* Teste de germinação. Danos por embebição. Alterações celulares.

## **METHODS FOR PRE-CONDITIONING SOYBEAN SEEDS: INFLUENCE ON THE REDUCTION OF SEEDLING ABNORMALITY**

### **ABSTRACT**

PEREIRA, L. S. **Methods for pre-conditioning soybean seeds: influence on the reduction of seedling abnormality**. 2019. 70 p. Dissertation (Master in Agronomy) - Federal University of Grande Dourados. Dourados-MS.

The germination test aims to the percentual of seeds with aptitude to become seedlings under favorable conditions of the field. Even so, the results of the soybean germination in germitest paper can be affected by the phenomenon known as the "imbibitional damage". The main purpose of this work is to evaluate the effect of different methods such as exposure of seeds, and temperature in the preconditioning of seeds, aiming to reduce the abnormalities of the seedlings in the germination test of soybeans seeds. For the essay, it was used five sample of seeds from the M6410 IPRO cultivar, and to compare with seeds tolerant to soaking damages there were used five sample of BMX Potência RR cultivar. Initially, the physiologic potential of the samples was characterized by the germinating and vigor test. The seed were submitted under different treatments of preconditioning: humid atmosphere method, humid substrate method and soaking method for 4, 6, 8, 16 and 24 hours, under temperature of 20°C, 25°C and 30°C. Posteriorly, it was determined the moisture content and the water absorption curve of the seeds. The seeds were evaluated by their germination, electrical conductivity and field emergence. In parallel it was held the cytologic evaluation from the root meristem of the seeds which were submitted to each preconditioning method. The experimental design was completely randomized with four replicates, and the results were followed to analysis of variance. Therefore, it was verified that preconditioning by humid atmosphere have an positive effect on percentage of normal seedling from the soybeans seeds of M6410 IPRO cultivar. On the other hand, the soak method in germination test increased the damages by fast soaking in soybean seeds provoking an increment of abnormal seedlings percentual characterized for choking off the main root. The soaking damages in soybean seeds are associated to changes in celular morphology and mitosis cycle, with incidence of chromosomic abnormalities, reducing size of the nucleus, nuclear bud, and damages in the mitosis cycle.

**Keywords:** *Glycine max.* Germination Test. Imbibitional damage. Cell alterations.

## 1. INTRODUÇÃO

A semente tem grande importância para o setor agrícola, pois conduz a lavoura às informações genéticas decisivas para o desempenho da cultivar, ao mesmo tempo que sua qualidade é responsável pelo estabelecimento de uma população de plantas adequada, base para tornar a produção rentável (MARCOS FILHO, 2015; FINCH-SAVAGE e BASSEL, 2016).

A utilização de sementes com alto potencial fisiológico visa assegurar adequada população de plantas em uma ampla variação de condições ambientais de campo encontradas durante a emergência, e possibilitar aumento na produção quando a densidade de plantas é menor que a requerida. Além disso, sementes com baixo vigor apresentam reduções na velocidade de emergência, na uniformidade, na emergência total, no tamanho inicial e no estabelecimento de plântulas (SCHEEREN et al., 2010).

Na cultura da soja, o uso de sementes de alta qualidade resulta em emergência rápida, uniforme e nodesenvolvimento de plantas vigorosas. A obtenção de uma lavoura com população adequada depende de diversos fatores, como o preparo do solo adequado, a semeadura na época indicada e com disponibilidade hídrica, a utilização correta de herbicidas, a regulação da semeadora e a alta qualidade da semente empregada (VAZQUEZ et al., 2008).

A qualidade fisiológica da semente é avaliada por meio do teste padrão de germinação, que é conduzido sob condições ótimas de ambiente, proporcionando o máximo potencial germinativo e estabelecendo o limite para a performance do lote após a sua semeadura sob condições favoráveis de campo (BRASIL, 2009; OHLSON et al., 2010).

Os resultados do teste de germinação de sementes de soja realizados em papel, podem ser afetados pelo fenômeno conhecido como “dano por embebição rápida”. A danificação é provocada pela entrada rápida de água nas sementes secas. Esse dano pode ser mais drástico em temperaturas abaixo da temperatura ótima para cada cultura, apesar da variabilidade genética para esse caráter, fazendo com que diferentes cultivares respondam de forma diferente à embebição rápida (PESKE et al., 2012). Os danos em sementes sensíveis à embebição rápida podem ser atenuados com o pré-condicionamento das sementes, que consiste na elevação do teor de água das sementes por meio de atmosfera úmida antes do teste de germinação. A técnica está

preconizada nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e contribui para que lotes de sementes com elevada qualidade não sejam indevidamente avaliados e descartados. A semente quando submetida ao condicionamento, possui um maior período de tempo para reparar as lesões metabólicas antes de germinar (VARIER et al., 2010; ATAÍDE et al., 2016).

A necessidade de obtenção de resultados rápidos e confiáveis na análise de sementes e a demanda de informações sobre o real estado de qualidade, com o intuito de evitar que lotes com germinação elevada, sejam descartados por não terem sido devidamente avaliados estimula o desenvolvimento de metodologias com potencial de otimizar a execução de testes de germinação na rotina dos laboratórios e, conseqüentemente a obtenção de seus resultados.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os métodos, os períodos de exposição e temperaturas no pré-condicionamento de sementes visando reduzir a anormalidades de plântulas. Além disso, a ocorrência de alterações celulares durante a embebição rápida de sementes foram avaliadas e, se as mudanças celulares que ocorrem poderiam culminar na anormalidade de plântulas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 QUALIDADE DE SEMENTES

A grande maioria das culturas no cenário da agricultura mundial começa com a semeadura para estabelecer uma nova planta no campo. O estabelecimento bem-sucedido da população de plantas é o primeiro passo para a produção agrícola e determina o sucesso ou o fracasso da safra (FINCH-SAVAGE e BASSEL, 2016).

O setor de sementes no Brasil teve sua importância aumentada com o passar dos anos, principalmente pela visível evolução na seleção dos materiais utilizados para o cultivo e pelo reconhecimento por parte dos produtores sobre os benefícios do uso de sementes de alta qualidade (FRANÇA NETO et al., 2010).

A qualidade de sementes corresponde a um conjunto de características que determinam seu valor para a semeadura, indicando que o potencial somente pode ser identificado, de maneira consistente, quando é considerada a interação dos atributos de natureza genética, física, fisiológica e sanitária (MARCOS FILHO, 2015). Esses atributos respondem pelo desempenho da semente no campo, permitindo o estabelecimento da população de plantas requerida pela cultivar, aspecto fundamental, para que sejam alcançados níveis elevados de produtividade (KRZYZANOWSKI et al., 2018). Nesse contexto, a qualidade da semente é o somatório de atributos que determinam a sua capacidade de originar plantas de alta produtividade e está ligada à ao desenvolvimento das funções vitais, abrangendo germinação, vigor e longevidade.

A utilização de sementes de alta qualidade associada a boas práticas de semeadura asseguram o estabelecimento de uma população de plantas que terão um desempenho superior no campo. As sementes de alta qualidade também auxiliam os avanços genéticos, garantindo a qualidade e mantendo tecnologias de adaptação nas diversas regiões (FRANÇA NETO et al., 2016).

A qualidade fisiológica das sementes é máxima por ocasião da maturidade fisiológica. A partir desta fase, dá-se início às mudanças degenerativas, tanto de natureza física, fisiológica ou bioquímica, caracterizando o processo de deterioração. A deterioração é evidenciada por danos genéticos, perda da integridade do sistema de membranas, redução da capacidade seletiva, peroxidação de lipídios, lixiviação de solutos, mudanças na atividade respiratória das sementes, modificações na atividade



enzimática e síntese de proteínas, incapacidade de manutenção do gradiente eletroquímico, a perda da compartimentalização celular e acúmulo de substâncias tóxicas (DELOUCHE, 2002).

O potencial fisiológico engloba informações sobre a viabilidade e o vigor das sementes e compreende o conjunto de aptidões que permite estimar a capacidade de um lote de sementes manifestar adequadamente suas funções vitais após a semeadura, ou seja, sob uma ampla faixa de condições ambientais. Assim, as informações referentes à germinação e ao vigor permitem a comparação entre lotes de sementes e avaliam a probabilidade de sucesso com a aquisição e utilização de sementes de alta qualidade (MARCOS FILHO, 2011).

A avaliação da germinação e identificação de lotes de sementes de alto desempenho é uma iniciativa importante para o sucesso da produção agrícola e, conseqüentemente, as informações dos laboratórios de sementes devem detectar com precisão as diferenças no potencial fisiológico entre os lotes testados. O desempenho das sementes após a semeadura ou durante o armazenamento demonstra se o potencial identificado pelos testes laboratoriais apropriados foi alcançado e quão adequado foram os procedimentos utilizados para essa avaliação (MARCOS FILHO, 2015).

Sementes de soja com baixo vigor apresentam redução da velocidade e na porcentagem de emergência, emergência desuniforme, reduções no tamanho inicial das plantas, na produção de matéria seca na área foliar e nas taxas de crescimento da cultura (KOLCHINSKI et al., 2006).

Um dos fatores que influencia na manutenção do vigor é o armazenamento; após a colheita este é um aspecto que deve ser realizado de maneira a reduzir as perdas da qualidade fisiológica dos lotes. A qualidade da semente, portanto, não pode ser melhorada e sim mantida, por meio do armazenamento adequado com condições controladas de umidade relativa do ar e temperatura, visando manter o vigor e o poder germinativo pelo máximo de tempo possível (ZUCARELI et al., 2015).

O armazenamento inadequado favorece a perda da qualidade de sementes, na qual está associada às mudanças nas atividades metabólicas, desencadeando no processo de deterioração, determinado pelas mudanças na síntese e atividade das mitocôndrias, desnaturação de proteínas, redução nas reservas de armazenamento, aumento dos ácidos graxos livres e redução dos níveis de açúcares, além de diminuição

da atividade enzimática e síntese de proteínas e RNA, na qual interferem reduzindo o potencial fisiológico das sementes (MARCOS FILHO, 2015).

A longevidade aumenta concomitantemente com o aumento do nível de transcritos que codificam proteínas de choque térmico, aumento no acúmulo de açúcares da série rafinose (RFO) e expressão de genes relacionados à degradação de clorofila. Assim, é provável que o desenvolvimento de sementes de soja colhidas em diferentes estágios de maturidade seja dotado de diferentes quantidades de compostos protetores (PEREIRA et al., 2017).

O potencial fisiológico das sementes é rotineiramente avaliado pelo teste de germinação, porém esse teste é realizado em condições ótimas, o que possibilita que o lote expresse sua máxima germinação. Por outro lado, os testes de vigor permitem identificar os lotes com maior ou menor probabilidade de apresentar melhor desempenho no campo ou durante o armazenamento (MARTINS et al., 2002); além de detectar diferenças associadas ao desempenho de lotes de sementes durante o armazenamento ou após a semeadura, procurando destacar lotes com maior eficiência para o estabelecimento do estande sob ampla variação das condições de ambiente (MARCOS FILHO et al., 2009).

A compreensão dos mecanismos bioquímicos, celulares e moleculares envolvidos na qualidade, no processo de germinação e na deterioração, pode ajudar a avaliar as sementes por meio de indicadores de deterioração celular (danos de membrana, acúmulo de espécies reativas de oxigênio - EROs, carbonilação de proteínas, oxidação de RNA, etc.); indicadores eficazes do sistema de proteção/defesa (açúcares solúveis, proteínas específicas, enzimas, como a catalase, etc.) e indicadores do processo de germinação (atividade respiratória, indução do ciclo celular, atividade hidrolítica, etc.) (CORBINEAU, 2012).

## **2.2 GERMINAÇÃO DE SEMENTES**

A germinação de sementes é um processo crucial no ciclo de vida das plantas, e que corresponde na transformação da semente em plântula. A velocidade com que o processo de transição entre a embebição e a protrusão radicular/desenvolvimento de plântulas ocorrem é que determina o desempenho da semente (WEITBRECHT et al., 2011).

O processo de germinação inicia-se com a absorção de água pela semente e termina com o início do alongamento do eixo embrionário, podendo ser identificado pela protrusão da raiz primária (BEWLEY e BLACK, 1982). De acordo com as Regras para Análise de Sementes, considera-se germinação de sementes, em teste de laboratório, a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma planta normal sob condições favoráveis de campo (BRASIL, 2009).

A água, juntamente com a temperatura, a luz e o substrato, são os principais fatores que condicionam a germinação de sementes. A temperatura influencia na germinação total, na velocidade da germinação, velocidade de hidratação e das reações bioquímicas. A água é um dos fatores mais importantes que afetam a germinação, pois reativa o metabolismo e está envolvida diretamente e indiretamente em todas as demais etapas da germinação. Além disso, o aumento do volume da semente em decorrência da absorção da água, provoca a ruptura do tegumento, e, desse modo ocorre a difusão do oxigênio para os tecidos internos e inicia-se a emergência da raiz primária (MARCOS FILHO, 2015).

O substrato apresenta grande influência durante o processo de germinação, pois fatores como estrutura, aeração, capacidade de retenção de água e grau de infestação de patógenos podem variar de acordo com o material usado. Além disso, a umidade do substrato interfere diretamente sobre o processo germinativo; caso não apresente hidratação suficiente ou excesso de água, a germinação é seriamente prejudicada (BRASIL, 2009).

O processo de germinação da semente depende da junção de fatores que influenciam no potencial da semente em gerar uma plântula normal. Dessa forma, a velocidade da embebição, a qualidade da água e a temperatura podem influenciar negativamente a germinação (PESKE et al., 2012).

Sementes de soja de cultivares distintas podem apresentar variabilidade na composição química, bem como sementes da mesma cultivar produzidas sob diferentes condições ambientais podem ter distinta qualidade fisiológica. A composição química da semente pode influenciar quali-quantitativamente na disponibilidade de compostos de pronta utilização pelo embrião, influenciando o processo germinativo de sementes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012).

### **2.3 DANOS POR EMBEBIÇÃO EM SEMENTES**

A velocidade de entrada da água nos tecidos das sementes é decisiva para o sucesso da germinação. O processo de embebição rápida pode ocasionar a desorganização da membrana celular ou rupturas em seus tecidos, desencadeando processos como respiração anaeróbica que geram prejuízos decorrentes da carência de oxigênio por aeração insuficiente. Além disso, o processo de hidratação de maneira acelerada provoca aumento na anormalidade e redução no vigor das plantas (ZUCARELI et al., 2008). Os sintomas podem ser observados durante a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas, por meio da redução acentuada na porcentagem de germinação, perda do vigor e o aumento da ocorrência de plântulas anormais (DE SOUZA et al., 2011).

As porcentagens elevadas de plântulas anormais nos testes de germinação podem ser uma consequência de problemas fisiológicos decorrentes do processo de embebição rápida, devido à baixa umidade da semente, a alta avidéz por água e ao seu alto conteúdo de proteína (SILVA e VILELLA, 2011). Segundo as Regras para Análise de Sementes, a metodologia de pré-condicionamento deverá ser aplicada antes do teste de germinação de sementes de soja que são sensíveis aos danos causados pela embebição rápida. Assim, quando as sementes apresentam sensibilidade, o pré-condicionamento das sementes deverá ser realizado, em “gerbox” com tela, contendo 40 mL de água, por um período de 16-24 horas a 25°C; após o período de pré-condicionamento, as sementes devem ser semeadas em rolo de papel (BRASIL, 2009).

A velocidade com que ocorre a hidratação da semente é controlada basicamente pelo teor de água da semente, temperatura ambiente e a taxa de absorção de água; esses fatores não dependem somente do fator ambiental, pois inclui características inerentes à semente, que pode estar relacionada à qualidade fisiológica, características morfológicas e à composição química do tegumento. A espessura do tegumento da semente varia entre espécies e também entre as cultivares de uma mesma espécie. Esta característica física é uniforme em sementes de uma mesma espécie ou cultivar e tem controle genético. A espessura reduzida do tegumento em alguns genótipos contribui para a permeabilidade do tegumento, sendo que a água tem uma menor distância para percorrer. Assim, a absorção rápida de água pela semente também provoca a rápida hidratação das estruturas cotiledonares (CAVARIANI et al., 2009).

No processo de hidratação, podem ocorrer danos por embebição em sementes, tendo em vista a velocidade com que a água penetra no interior delas. Esse dano ocorre quando diferenças acentuadas entre os potenciais hídricos da semente e do meio em que se encontram desencadeiam alterações na conformação e estrutura do sistema de membranas. As membranas, ao serem hidratadas, passam do estado em gel para líquido cristalino, como consequência da rápida absorção inicial de água durante a embebição e as sementes com baixo conteúdo de água sofrem aumento na lixiviação de solutos ao serem submetidas à rápida hidratação (HOEKSTRA et al., 1999; GRIS et al., 2010).

Inúmeros mecanismos podem ser desenvolvidos com o objetivo de impedir ou reduzir o dano por embebição, ocasionado pela rápida absorção de água pelos tecidos quando as sementes são submetidas ao substrato umedecido com água (COSTA et al., 2008). Nesse contexto, a pré-hidratação pode aumentar a uniformidade e a velocidade de germinação, sem que haja danos por embebição rápida o que poderia causar danos às membranas celulares em sementes em início de deterioração (MARCOS FILHO, 2015).

Há evidências de que o reparo do DNA desempenha um papel importante em diferentes aspectos da fisiologia das plantas, como durante a embebição e envelhecimento, sendo fundamental para a manutenção da viabilidade das sementes (BALESTRAZZI et al., 2011; DRESCH et al., 2015; MASETTO et al., 2016).

A germinação de sementes é controlada por atividades coordenadas de várias vias biológicas, que por sua vez são reguladas pela expressão espontânea e diferencial dos genes. Os danos genéticos podem se acumular na semente interferindo no desenvolvimento saudável do embrião e, conseqüentemente, impossibilitando a germinação. Nesse sentido, é necessário que ocorra o reparo dos danos durante a fase de embebição para que a germinação seja finalizada com sucesso (FU et al., 2015).

Caso contrário, os danos não reparados durante a fase de embebição de água pela semente, podem constituir um entrave para a continuidade do processo germinativo e perfeito desenvolvimento da plântula. Durante a germinação, a replicação do DNA é um evento relativamente tardio e geralmente não ocorre até algumas horas depois da semente absorver água. Inicialmente, é necessário que os danos ao DNA ocorridos durante a secagem, na fase final da maturação, ou durante a embebição sejam reparados e que ocorra considerável síntese de proteína. Assim, o tempo para iniciar a replicação do DNA constitui um indicador de vigor de sementes;

sementes com baixa qualidade necessitam de maior tempo para reparar os danos ao DNA e assim, os danos podem intensificar culminando na degradação do material genético durante a fase de embebição das sementes (OSBORNE, 2000; SLIWINSKA, 2009).

Os danos genéticos podem ser caracterizados como alterações morfológicas nos núcleos interfásicos; geralmente essas alterações são detectadas pela presença de brotos nucleares, redução do tamanho dos núcleos, células polinucleares, micronúcleos, danos no ciclo mitótico, entre outros. A presença de brotos nucleares e células polinucleares podem indicar um processo de morte celular, uma vez que essas anormalidades não são observadas nas células filhas (F1) (LEME e MARIN-MORALES, 2009).

As lesões ao DNA devem ser reparadas para evitar que o crescimento e o desenvolvimento das plantas seja afetado; e a germinação de sementes tem sido amplamente explorada para estudar mecanismos de reparo em vegetais. Os mecanismos de reparo ao DNA durante a embebição têm sido associados à característica de vigor das sementes, manutenção da longevidade e viabilidade (PARREIRA et al., 2018).

O DNA deve ser reparado antes do início da divisão celular para minimizar a inibição da divisão celular e mutação genética. As espécies reativas de oxigênio (EROs), são um dos principais agentes de mutagênese e o envelhecimento celular é a principal causa de deterioração em sementes armazenadas. As EROs resultam no acúmulo de macromoléculas oxidadas durante a embebição gerando altos níveis de estresse, causando danos às macromoléculas devido à perda na compartimentalização celular e baixa atividade de vias de reparo. A oxidação de lipídios está associada a perda de integridade da membrana e declínio no vigor e na viabilidade das sementes (WATERWORTH et al., 2015).

Quando o dano no DNA é eficientemente reparado, as células embrionárias retomam a progressão do ciclo celular e sofrem replicação do DNA; porém, quando os mecanismos de reparo são defeituosos, a lesão oxidativa leva à morte celular. O reparo do DNA é um componente chave no metabolismo, que deve ser ativado quando a absorção de água é iniciada no processo de embebição. Todas as principais vias de reparo do DNA são ativadas durante a fase inicial da embebição das sementes para manter a integridade do genoma. A atividade da semente em termos de eliminação de EROs é expressa como o potencial antioxidante da semente, um

requisito crítico para suportar o estresse e continuar a germinação. Assim, ocorre uma maior atividade de enzimas antioxidantes como Ascorbato Peroxidase, Catalase e Glutathione Redutase que permitem controlar o acúmulo de EROs durante a absorção de água, evitando a ocorrência de morte celular (KRANNER et al., 2010; PAPARELLA, 2015).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Tecnologia de Sementes da Faculdade de Ciências Agrárias, na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e na área experimental da Faculdade de Ciências Agrária (FCA), situados no município de Dourados-MS. Foram utilizados cinco lotes de sementes de soja das cultivares M6410 IPRO e BMX Potência RR, produzidas na safra 2017/2018 em Mato Grosso do Sul. Durante o período de realização das análises, as amostras permaneceram armazenadas na câmara fria e seca (15°C/ 55% UR) do Laboratório de Tecnologia de Sementes da FCA.

#### **3.1 Caracterização inicial dos lotes**

As sementes das cultivares M6410 IPRO e BMX Potência RR foram inicialmente caracterizadas quanto aos atributos físicos e fisiológicos. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições para cada lote. Para o agrupamento dos resultados médios dos lotes foi aplicado o teste de Scott- Knott ao nível de 5% de significância.

##### **3.1.1 Teor de água**

Para a determinação do teor de água das sementes foi utilizado o método da estufa a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$  por 24 horas, empregando-se quatro repetições de 5 g de sementes para cada lote. Os resultados foram expressos em porcentagem com base úmida (BRASIL, 2009).

##### **3.1.2 Teste de germinação**

O teste de germinação foi instalado com quatro repetições de 50 sementes para cada lote. As sementes foram posicionadas em rolo de papel Germitest<sup>®</sup>, umedecidos com água destilada em quantidade correspondente a 2,5 vezes a massa do papel seco e mantidas em germinador regulado a 25°C durante 8 dias. A avaliação foi realizada aos 8 dias após a instalação do teste, conforme os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

##### **3.1.3 Índice de velocidade de germinação**



O índice de velocidade de germinação (IVG) foi realizado conjuntamente ao teste de germinação; foram realizadas as leituras diárias do número de plantas normais. Posteriormente, foi aplicada a fórmula e os critérios estabelecidos por Maguire (1962) para o cálculo do IVG.

#### **3.1.4 Teste de frio**

Para o teste de frio utilizou-se como substrato rolo de papel Germitest® umedecido com água destilada na proporção a 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos de papel com as sementes foram acondicionadas dentro de sacos plásticos vedados que permaneceram em B.O.D. previamente regulada a 10°C. Após cinco dias, os rolos de papel foram retirados e mantidos no germinador a 25°C por mais cinco dias, procedendo-se com a avaliação do percentual de plântulas normais (BARROS et al., 1999).

#### **3.1.5 Envelhecimento acelerado**

Para o teste de envelhecimento acelerado as sementes foram distribuídas uniformemente sobre tela de aço no interior de caixa plástica tipo Gerbox® (11,0 x 11,0 x 3,5 cm) com 40 mL de água destilada no fundo. As caixas foram tampadas e mantidas em câmaras do tipo Biochemical Oxygen Demand (B.O.D.) regulada a 41°C durante 48 horas. Após este período, realizou-se a distribuição das sementes em rolo de papel Germitest® que foram mantidos em germinador à temperatura de 25°C (MARCOS FILHO, 1999). A avaliação ocorreu no quinto dia após a semeadura computando-se a porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

#### **3.1.6 Emergência de plântulas em campo**

As sementes foram semeadas em sulcos de 1,00 m de comprimento, espaçamento de 0,50 m e profundidade aproximada de 0,03 m. Realizou-se a contagem das plântulas emergidas após o período de oito dias de instalação do teste e os resultados foram expressos em porcentagem (NAKAGAWA, 1999).

#### **3.1.7 Índice de velocidade de emergência**

Conjuntamente ao teste de emergência de plântulas em campo, foram realizadas as contagens diárias do número de plantas emergidas. Foi aplicada a fórmula e os critérios estabelecidos por Maguire (1962) no cálculo do IVE.

### **3.1.8 Condutividade elétrica**

A condutividade elétrica foi determinada com quatro repetições de 50 sementes previamente pesadas e colocadas em um recipiente contendo 75 mL de água deionizada e mantidas a 25°C por 24 horas. Decorrido o período de embebição, foram feitas as leituras em condutivímetro digital portátil. O resultado obtido da leitura da solução de embebição foi dividido pela massa de sementes de cada repetição, de modo que o resultado final foi expresso em  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  (VIEIRA e KRZYZANOWSKI, 1999).

### **3.1.9 Comprimento de parte aérea e raiz**

Para a determinação do comprimento de plântulas foi realizada a semeadura de 20 sementes sobre uma linha traçada no terço superior do papel Germitest®, no sentido longitudinal. As amostras foram mantidas no germinador durante sete dias, sob temperatura de 25°C. Decorrido o período, foram determinadas as medidas do comprimento médio da parte aérea e do comprimento de raiz das plântulas normais com auxílio de uma régua graduada (NAKAGAWA, 1999) e os resultados foram expressos em centímetros (cm).

### **3.1.10 Massa de matéria seca de parte aérea e de raiz**

Após a determinação do comprimento de plântulas, as partes das plântulas foram colocadas no interior de sacos de papel e secas em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 65°C, durante 48 horas. Os cálculos foram efetuados dividindo-se a massa obtida pelo número de plântulas normais contidas em cada amostra e, posteriormente, a média aritmética para cada repetição, com expressão dos resultados em gramas (g) (NAKAGAWA, 1999).

## **3.2 Métodos de pré-condicionamento de sementes**

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento. Foram testados os seguintes métodos e suas associações e o método do substrato úmido foi considerado o controle:

### **3.2.1 Método da imersão em água**

As sementes foram colocadas diretamente no interior de recipientes plásticos (180 mL) contendo 100 mL de água destilada e foram mantidas em câmaras

tipo B.O.D. reguladas nas temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C durante os períodos de 4, 6, 8, 16 e 24 horas (ZUCARELI et al, 2011).

### **3.2.2 Método do substrato úmido**

Foram utilizados como substrato rolos de papel Germitest® umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco. Foram utilizadas três folhas de papel Germitest®, distribuindo-se as sementes sobre duas delas e cobrindo-as com a terceira folha. Os rolos foram acondicionados em sacos plásticos fechados e mantidos, em câmaras tipo B.O.D. reguladas nas temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C por 4, 6, 8, 16 e 24 horas (BRASIL, 2009; ZUCARELI et al, 2008).

### **3.2.3 Método da atmosfera úmida**

Para o método da atmosfera úmida, cada repetição foi disposta sobre tela metálica acoplada em caixas plásticas transparentes tipo Gebox® (11,0 x 11,0 x 3,5 cm), com 40 mL de água destilada no interior e mantidas em câmaras B.O.D. por 4, 6, 8, 16 e 24 horas, sob as temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C (BRASIL, 2009; ZUCARELI et al, 2008).

## **3.3 Características avaliadas**

Após cada período associado aos métodos de pré-condicionamento, as sementes foram submetidas aos seguintes testes:

### **3.3.1 Teste de germinação**

O teste de germinação foi conduzido da mesma forma citada anteriormente. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais e plântulas anormais (BRASIL, 2009).

### **3.3.2 Emergência em campo**

Foram utilizados recipientes preenchidos com solo do tipo Latossolo Vermelho distroférrico, sendo a semeadura realizada manualmente na profundidade de 0,03 m. A avaliação da emergência de plântulas foi realizada após oito dias do início da instalação do teste e os resultados foram expressos em porcentagem (NAKAGAWA, 1999).

### **3.3.3 Condutividade elétrica**

As sementes foram previamente pesadas, colocadas para embeber em 75 mL de água destilada e deionizada por um período de 24 horas a 25°C. Após realizou-se a leitura ( $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) da condutividade elétrica da solução de embebição em condutivímetro digital portátil (VIEIRA e KRZYZANOWSKI, 1999).

### **3.3.4 Curva de absorção de água**

A curva de absorção de água foi determinada com 5 repetições de 10 sementes para cada método de pré-condicionamento. As sementes foram dispostas em rolo de papel Germitest® umedecido com água destilada e foram pesadas em balança digital com precisão de 0,001 g a cada 1 hora por um período de 24 horas.

### **3.3.5 Análise citológica**

Após cada método de pré-condicionamento (imersão em água, substrato úmido e atmosfera úmida) durante 24 horas sob temperatura de 25°C, as sementes foram retiradas, fixadas em solução de ácido acético: álcool etílico (3:1) e armazenadas a 10°C durante 24 horas.

#### **3.3.5.1 Preparação das lâminas**

Inicialmente, as pontas das raízes foram retiradas da solução fixadora com auxílio de bisturi e submetidas a duas lavagens em água destilada (5 minutos cada). Em seguida, foram hidrolisadas com HCL 1N por 10 minutos em banho-maria a 60°C e posteriormente, os tubos com as raízes foram resfriados em água na temperatura ambiente. Após nova lavagem dos meristemas radiculares hidrolisados em água destilada, foram preparadas cinco lâminas com três meristemas para cada tratamento. As pontas das raízes foram colocadas sobre as lâminas, cobertas por lamínulas e realizados macerados. As lâminas foram congeladas por 20 minutos a -20°C. Logo, as lamínulas foram retiradas e as lâminas deixadas 30 minutos em temperatura ambiente para secagem.

Posteriormente, as mesmas foram coradas utilizando o Kit Panótico Rápido®, sendo que as lâminas foram submersas 10 vezes em cada recipiente com submersões de 1 segundo de duração. Logo, as lâminas foram imersas em água destilada por três vezes e secas em temperatura ambiente (ADAPTADO de MENEGUETTI et al., 2012).

#### **3.3.5.2 Características avaliadas**

As lâminas foram avaliadas sob microscópio de luz (ZEISS® Primo Star) usando lentes com aumento de 100x. Em cada lâmina foram avaliadas mil células e quantificadas as células com anormalidades no núcleo e o percentual de células em intérfase e em divisão.

O cálculo do **Índice Mitótico (IM%)** foi realizado pela divisão do número total de células em divisão pelo número total de células analisadas, multiplicando-se por 100. O **Índice de Morte Celular (IMC)** foi avaliado por meio da divisão do número total de células mortas pelo número total de células analisadas. O **Índice de Alterações Cromossômicas (IAC)** foi avaliado pela contagem de alterações cromossômicas (cromossomo solto, ponte anafásica, atrasos, micronúcleos e broto nuclear), pelo número total de células analisadas. Os micronúcleos foram contados para avaliar o **Índice de Mutagenicidade (IMT)**.

### **3.4 Procedimento Estatístico**

Foi utilizado o esquema fatorial 3 x 3 x 5 (métodos de pré-condicionamento x temperaturas x períodos), utilizando-se para cada tratamento o resultado médio dos cinco lotes para cada cultivar.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade com o software estatístico SISVAR® (FERREIRA, 2011).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização inicial dos lotes

Para a cultivar M6410 PRO observou-se que os lotes 1, 4 e 5 apresentaram germinação semelhante entre si e não foram detectadas diferenças de vigor entre esses lotes e o lote 2 pelos testes de condutividade elétrica e IVG, sendo também verificado que o lote 2 apresentou vigor superior pelo desempenho de plântulas, exceto pela determinação de massa de matéria seca de parte aérea (Quadro 1). Por outro lado, o lote 2 apresentou os maiores resultados de plântulas anormais, sem diferir do lote 3, sendo verificado que a baixa qualidade destes dois lotes foi indicado pelo teste de germinação e pelos testes de vigor aplicados (Quadro 1).

Vale destacar que o teor de água das sementes do lote 2 encontrava-se abaixo de 11% (Quadro 1), que pode constituir um condicionante de estresse durante o teste de germinação conduzido com a exposição direta das sementes em papel umedecido. Por outro lado, as circunstâncias que envolvem a condução de certos testes de vigor determinam a avaliação de partes das plântulas, como verificado para o comprimento de parte aérea e de raiz, que possibilitaram caracterizar o lote 2 com qualidade superior, diferente do que foi observado com a avaliação da germinação e demais testes de vigor. As sementes com o teor de água mais elevado, a exemplo do lote 3 (14,9%) também apresentaram baixa germinação e vigor, exceto pela determinação de massa de matéria seca de parte aérea e de condutividade elétrica, sendo que o resultado inferior de condutividade pode ser devido ao teor de água mais elevado que as sementes deste lote apresentaram em relação aos demais, proporcionando a entrada de água de forma mais controlada, assim como a lixiviação de eletrólitos (Quadro 1). Esses resultados indicam que o baixo poder germinativo e alto percentual de plântulas anormais estava em consonância com a baixa qualidade do lote 3, determinada pela avaliação do vigor, em comparação com os demais lotes.

Para a cultivar BMX Potência RR, o lote 3 apresentou germinação e vigor elevados em relação aos demais lotes, exceto para a massa de matéria seca de plântulas (Quadro 2). Dentre os testes mais recomendados para a avaliação do vigor de sementes de soja, destacam-se o envelhecimento acelerado; condutividade elétrica e crescimento de plântulas (MARCOS FILHO et al., 2009).

Todos os testes de vigor aplicados, exceto pelo comprimento de parte aérea, foram uniformes em evidenciar que o baixo poder germinativo dos demais lotes representava um indicativo de perda da qualidade (Quadro 2). Como observado por Schuab et al. (2007), a estimativa de porcentagem de emergência em campo, proporciona informações para identificar os lotes que possuam maiores possibilidades de apresentar melhor desempenho em campo, ou seja, avaliar corretamente o potencial de cada lote.

Os testes de vigor determinam índices de qualidade mais sensíveis em relação ao teste de germinação, que simula condições ótimas do ambiente podendo superestimar o potencial fisiológico dos lotes, apesar de ser o mais utilizado na rotina dos laboratórios. O teste de envelhecimento acelerado é reconhecido como um dos mais populares para avaliação do vigor de sementes, e tem apresentado boas correlações com a emergência de plântulas em campo, sendo capaz de diferenciar os lotes em diferentes níveis de vigor, pois são traduzidos pelo grau de tolerância às condições adversas de temperatura e umidade relativa (BARBOSA et al., 2011).

A menor velocidade de germinação está correlacionada ao vigor pois, sementes menos vigorosas, antes de iniciarem o processo de crescimento do eixo embrionário, promovem primeiramente a restauração das organelas e dos tecidos danificados, de maneira que o tempo consumido nesse processo amplia o período total para que a germinação e posterior emergência ocorram (SENA et al., 2015).

Alguns testes de vigor são desenvolvidos em condições de ambiente desfavoráveis e têm a capacidade de detectar, com maior exatidão, os avanços da deterioração das sementes anteriores à perda total do poder germinativo, permitindo diferenciar lotes com germinação semelhantes (AOSA, 1983; MARCOS FILHO, 2013; FINCH-SAVAGE e BASSEL, 2016). Os resultados obtidos para a caracterização dos lotes permitem reforçar a importância dos vários testes para avaliar a qualidade fisiológica dos lotes de sementes de soja (MARCOS FILHO, 1999; SANTOS et al., 2011), pois os testes de vigor ajudam a complementar as informações fornecidas pelo teste de germinação.

Quadro 1. Caracterização dos lotes de sementes de soja da cultivar M6410 IPRO, quanto ao teor de água (TA), germinação (G), plântulas anormais (PA), índice de velocidade de germinação (IVG), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA), emergência em campo (EM), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE), comprimento da parte aérea (CPPA), comprimento de raiz (CPR), massa da matéria seca de parte aérea (MSPA) e massa da matéria seca de raiz (MSR).

| <b>LOTE</b>   | <b>TA</b><br>% | <b>G</b><br>% | <b>PA</b><br>% | <b>IVG</b> | <b>TF</b><br>% | <b>EA</b><br>% | <b>EM</b><br>% | <b>IVE</b>  | <b>CE</b><br>$\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ | <b>CPPA</b><br>cm | <b>CPR</b><br>cm | <b>MSPA</b><br>g | <b>MSR</b><br>g |
|---------------|----------------|---------------|----------------|------------|----------------|----------------|----------------|-------------|---|-------------------|------------------|------------------|-----------------|
| 1             | 11,1           | 84 a          | 13 b           | 10,17 a    | 78 a           | 70 a           | 65 b           | 3,54 b      | 54,46 a   | 22,44 b           | 16,22 c          | 0,0830 b         | 0,009590 b      |
| 2             | 10,8           | 78 b          | 18 a           | 10,35 a    | 67 b           | 46 c           | 70 b           | 3,97 b      | 56,02 a   | 33,13 a           | 21,94 a          | 0,0735 b         | 0,017875 a      |
| 3             | 14,9           | 76 b          | 19 a           | 8,70 b     | 47 c           | 36 c           | 66 b           | 3,05 b      | 45,49 b   | 25,63 b           | 12,91 e          | 0,1834 a         | 0,007938 c      |
| 4             | 11,8           | 84 a          | 15 b           | 10,25 a    | 77 a           | 45 c           | 81 a           | 7,73 a      | 51,35 a   | 21,89 c           | 14,12 d          | 0,0819 b         | 0,008860 b      |
| 5             | 12,6           | 83 a          | 14 b           | 10,53 a    | 81 a           | 56 b           | 70 b           | 2,43 b      | 53,85 a   | 32,94 a           | 20,66 b          | 0,0154 c         | 0,007843 c      |
| <b>CV (%)</b> |                | <b>5,59</b>   | <b>17,39</b>   | <b>6,5</b> | <b>4,32</b>    | <b>13,88</b>   | <b>6,4</b>     | <b>18,3</b> | <b>7,31</b>                                     | <b>2,65</b>       | <b>4,19</b>      | <b>10,37</b>     | <b>6,29</b>     |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.



Quadro 2. Caracterização dos lotes de sementes de soja da cultivar BMX Potência RR, quanto ao teor de água (TA), germinação (G), plântulas anormais (PA), índice de velocidade de germinação (IVG), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA), emergência em campo (EM), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE), comprimento da parte aérea (CPPA), comprimento de raiz (CPR), massa da matéria seca de parte aérea (MSPA) e massa da matéria seca de raiz (MSR).

| LOTE          | TA   | G           | PA           | IVG         | TF          | EA          | EM           | IVE          | CE                                 | CPPA        | CPR        | MSPA         | MSR          |
|---------------|------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|------------------------------------|-------------|------------|--------------|--------------|
|               | %    | %           | %            |             | %           | %           | %            |              | $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ | cm          | cm         | g            | g            |
| 1             | 5,38 | 83 b        | 6 b          | 10,37 b     | 58 b        | 62 b        | 65 b         | 6,41 b       | 41,18 a                            | 13,26 a     | 20,32 a    | 0,79510 b    | 0,118175 a   |
| 2             | 5,50 | 80 b        | 8 a          | 9,56 c      | 59 b        | 60 b        | 64 b         | 6,20 b       | 42,32 a                            | 11,90 a     | 18,20 b    | 1,29175 a    | 0,149675 a   |
| 3             | 5,04 | 97 a        | 2 c          | 12,00 a     | 90 a        | 92 a        | 94 a         | 9,33 a       | 37,04 b                            | 13,30 a     | 19,95 a    | 0,52905 c    | 0,058350 b   |
| 4             | 5,05 | 73 b        | 9 a          | 8,68 d      | 44 c        | 66 b        | 47 c         | 5,00 b       | 41,99 a                            | 11,59 a     | 21,53 a    | 0,64587 c    | 0,080600 b   |
| 5             | 5,17 | 77 b        | 6 b          | 8,06 d      | 50 c        | 69 b        | 56 b         | 5,81 b       | 42,75 a                            | 12,51 a     | 20,64 a    | 0,54457 c    | 0,078825 b   |
| <b>CV (%)</b> |      | <b>5,59</b> | <b>28,37</b> | <b>6,19</b> | <b>7,48</b> | <b>9,54</b> | <b>14,22</b> | <b>12,39</b> | <b>6,34</b>                        | <b>9,37</b> | <b>5,9</b> | <b>11,18</b> | <b>24,47</b> |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

## 4.2 Métodos de pré-condicionamento de sementes - cultivar M6410

### **I PRO**

Houve interação significativa entre os métodos de pré-condicionamentos, períodos e temperaturas para a germinação das sementes (Figuras 1 e 2). O método de pré-condicionamento com atmosfera úmida e substrato úmido foram semelhantes entre si e proporcionaram maior germinação das sementes em relação à imersão em água em todas as e temperaturas e períodos avaliados (Figura 1). No entanto, foram encontradas diferenças entre os dois métodos nos períodos de 8 e 24 h para as temperaturas de 25°C e 30°C, sendo que o substrato úmido e a atmosfera úmida, respectivamente, proporcionaram maior germinação das sementes (Figuras 1B e 1C).

Inicialmente, não houve diferenças entre a germinação das sementes pré-condicionadas com substrato úmido e atmosfera úmida durante as primeiras 16 h de embebição; entretanto, com o prolongamento do período por 24 h, foi possível detectar a redução da germinação com a exposição direta ao substrato úmido (Figuras 1A, 1B e 1C). Durante o pré-condicionamento das sementes, períodos maiores de exposição ao método atmosfera úmida permitiram melhor acondicionamento das sementes, proporcionando um maior período para a reestruturação das membranas celulares, já no método imersão em água, períodos maiores proporcionaram menor porcentagem de germinação de sementes de soja da cultivar M6410 I PRO (SILVA e VILLELA, 2011). Os mecanismos moleculares de proteção ao sistema de membranas podem ser ativados durante o pré-condicionamento por atmosfera úmida, limitando a lixiviação do conteúdo celular e, assim, permitindo um melhor desempenho das sementes durante o processo de germinação (COSTA et al., 2008).

As sementes de milho com baixo teor de água, quando colocadas em contato com substrato úmido ou em imersão em água também apresentaram inicialmente rápida e intensa perda de líquidos, provocando danos nas membranas celulares, que são os eventos iniciais das alterações degenerativas nas sementes (ZUCARELLI et al., 2011). A perda completa da viabilidade celular devido aos danos irreversíveis à membrana é chamada de “dano por embebição rápida” e pode reduzir a germinação (MASETTO et al., 2011).

Verificou-se que somente com a execução do pré-condicionamento das sementes de soja sob atmosfera úmida durante 16 ou 24 h, nas diferentes temperaturas, foi possível obter germinação acima de 80%, que é preconizada para a comercialização

das sementes de soja (BRASIL, 2013). Esses resultados indicam que na rotina da análise de sementes, a condução do pré-condicionamento sob atmosfera úmida é eficiente e, para certas cultivares de soja, necessário para obter resultados confiáveis no teste de germinação de sementes (Figura 1). Assim, o resultado elevado de germinação em sementes pré-condicionadas pode estar relacionado à efetividade da pré-hidratação em reparar a integridade celular durante o processo de absorção de água de forma mais lenta e diminuição dos possíveis danos causados à integridade das membranas decorrentes do processo de absorção de água de forma rápida (SILVA e VILLELA, 2011).

A semente com baixo conteúdo de água apresenta atividade metabólica reduzida e à medida que ocorre a reabsorção de água, o metabolismo é reativado (ZUCARELLI et al., 2011). O processo de rápida embebição pela semente, pode causar danos durante a transição de membranas da fase gel para a fase líquido-cristalina, ocorrendo liberação de soluto para o meio. Os danos incluem a quebra na fita de DNA devido a ação de espécies reativas de oxigênio (EROs), mudanças nos pares de bases e fragmentação do DNA (KRANNER et al., 2010). Assim, para um melhor desempenho durante a germinação, as sementes desencadeiam vários mecanismos de reparo das membranas, proteínas e ao DNA genômico (WATERWORTH et al., 2015).

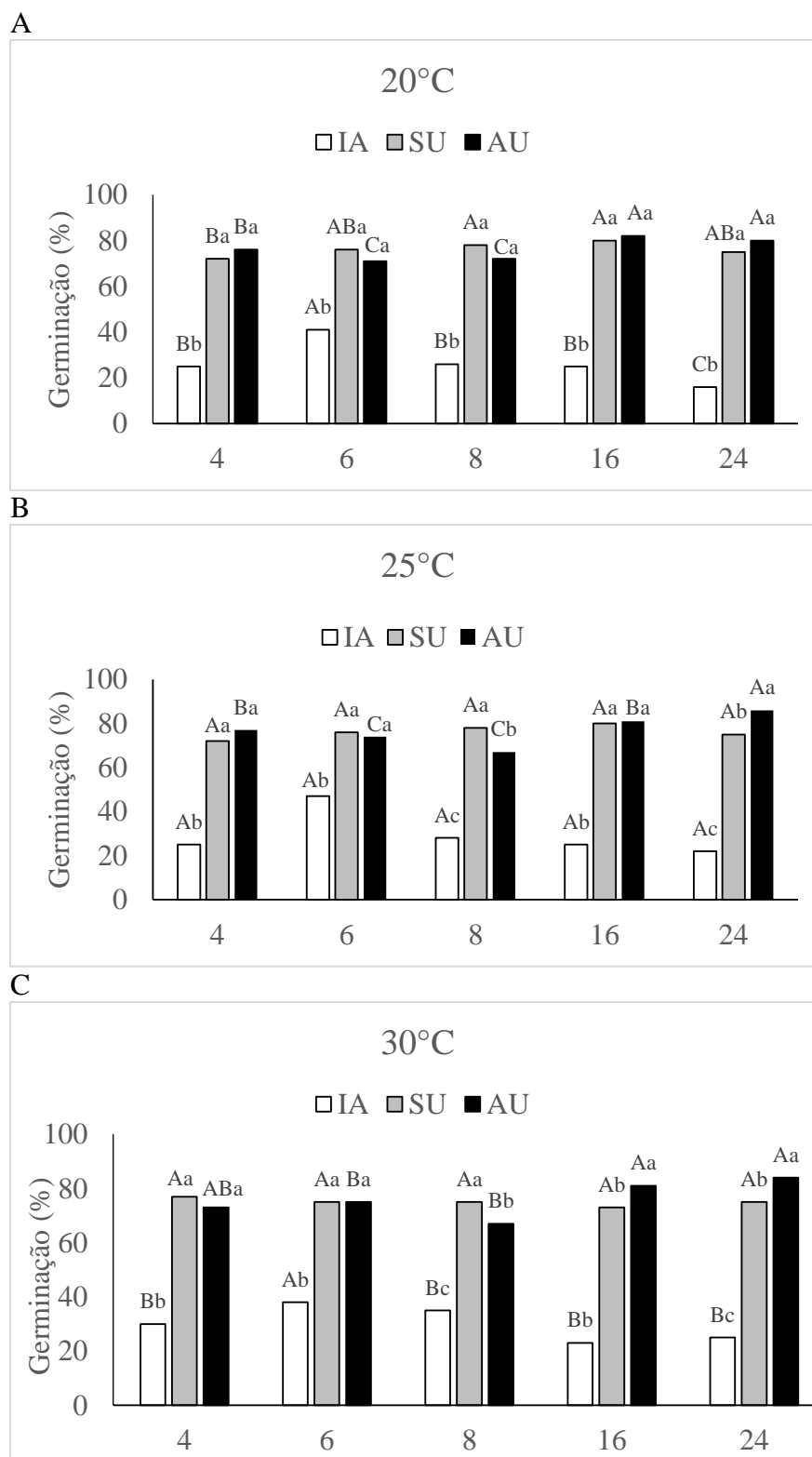


Figura 1. Germinação (%) de sementes de soja da cultivar M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos (h). Letras minúsculas comparam diferentes métodos de pré-condicionamento dentro do mesmo período. Letras maiúsculas comparam os mesmos métodos de pré-condicionamento em períodos diferentes. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Em todas as temperaturas empregadas, o método de imersão em água foi o mais prejudicial para a germinação das sementes de soja, evidenciando os efeitos deletérios da embebição rápida (Figura 2A). Verificou-se que a temperatura apresentou efeito significativo nas primeiras horas de pré-condicionamento das sementes (Figura 2B); por 4 horas de hidratação, a temperatura mais elevada (30°C) apresentou maior germinação em relação às demais, sendo que entre 6 e 8 horas, a temperatura de 25°C foi superior. Acima de 16 horas não houve diferenças entre as temperaturas (Figura 2B).

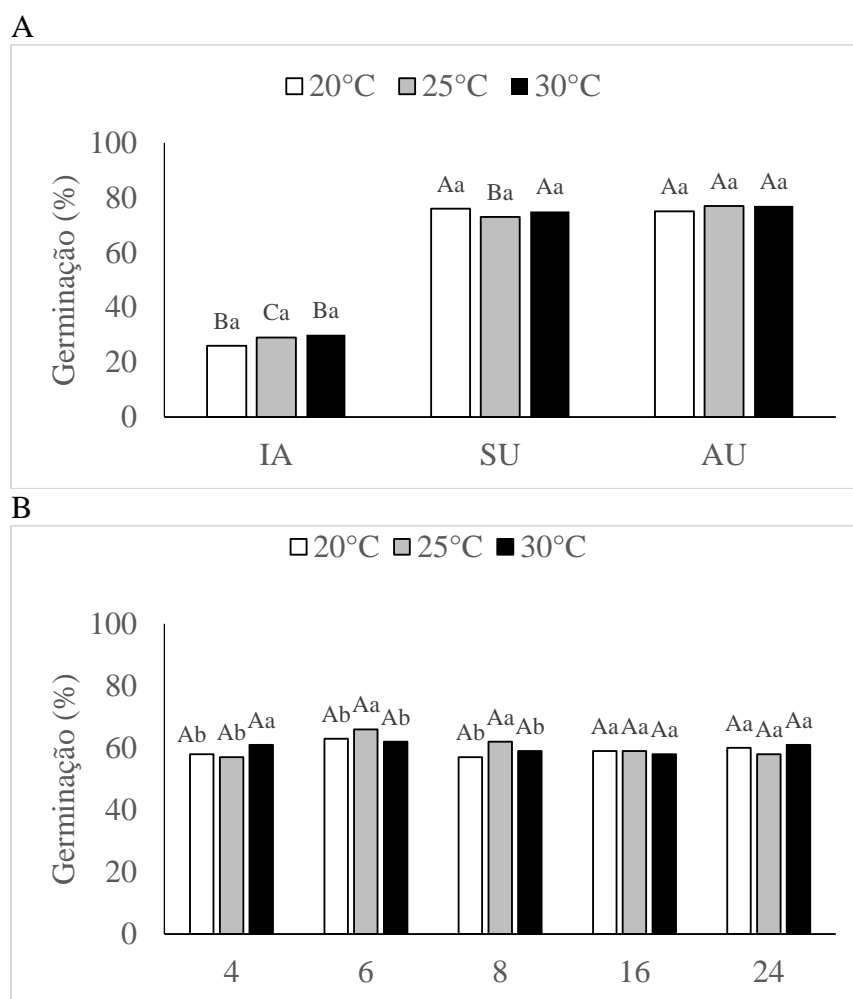


Figura 2. Germinação (%) de sementes de soja da cultivar M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas. Letras maiúsculas comparam a mesma temperatura em diferentes métodos. Letras minúsculas comparam temperaturas diferentes no mesmo método (A). Germinação (%) de sementes de soja da cultivar M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento em diferentes períodos (h) e temperaturas (C°). Letras maiúsculas comparam a mesma temperatura em diferentes períodos. Letras minúsculas comparam diferentes temperaturas no mesmo período (B). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

As plântulas anormais que ocorreram no teste de germinação de sementes da cv. M6410 IPRO foram caracterizadas pelo encurtamento e estrangulamento na raiz primária (Figura 3).



Figura 3. Plântulas anormais de soja provenientes de sementes cv. M6410 IPRO provenientes de sementes suscetíveis aos danos por embebição rápida.

A formação de plântulas anormais foi influenciada significativamente pela interação entre os métodos, temperaturas e períodos de pré-condicionamento (Figura 4). Em qualquer uma das temperaturas avaliadas verificou-se que o método de imersão em água elevou a formação de plântulas anormais (Figuras 4A, 4B e 4C), indicando a sensibilidade das sementes à embebição direta em água.

A entrada de água rápida na semente dirige uma série de eventos bioquímicos dinâmicos, entre os quais ocorre a ativação de enzimas, danos e reparo ao DNA, quebra, translocação e utilização do material de reserva (MACOVEI et al., 2017). A velocidade de penetração da água nos tecidos das sementes influencia diretamente na germinação. O processo de absorção rápida ocasiona a desorganização da membrana celular ou rupturas em seus tecidos, desencadeando processos como respiração anaeróbica, que geram prejuízos decorrentes da carência de oxigênio por aeração insuficiente (ZUCARELI et al., 2008). Os resultados elevados de plântulas anormais após a imersão direta em água (Figura 4) indicam que os mecanismos de reparo durante a fase inicial da germinação das sementes estavam ausentes e/ou foram ineficientes para recuperar a desorganização celular após a entrada de água abrupta e evidenciam a característica de sensibilidade aos danos por embebição das sementes de soja da cv M6410.

Vale destacar que conforme o aumento do período de imersão direta em água, os danos por embebição foram acentuados, verificando-se que com 24 horas de

embebição houve a formação de aproximadamente 50% de plântulas anormais (Figuras 4B e 4C). Por outro lado, o método de atmosfera úmida, que promove a hidratação lenta das sementes proporcionou os menores resultados de plântulas anormais (Figuras 4A, 4B e 4C).

A condução do teste de germinação após 24 horas de pré-condicionamento em atmosfera úmida proporcionou resultados de plântulas anormais bem inferiores em relação à exposição direta das sementes em substrato úmido (controle), sendo verificada uma redução de aproximadamente 40 pontos percentuais para todas as temperaturas (Figuras 4A, 4B e 4C).

Embora fosse identificada a sensibilidade das sementes à rápida entrada de água, o pré-condicionamento sob atmosfera úmida foi eficiente para atenuar os danos e restabelecer as funções metabólicas que determinam a normalidade do processo germinativo. Assim, quando uma semente com sensibilidade é submetida ao pré-condicionamento, com a hidratação gradativa da semente, esta possui mais tempo para reparar as lesões metabólicas antes que ocorra a germinação (ATAÍDE et al., 2016). A menor diferença de potencial hídrico, imposta pela atmosfera úmida, reduz a velocidade de absorção de água pelas sementes e permite a ocorrência de reparação das membranas celulares que regulam a entrada de água e a perda de solutos. A pré-hidratação das sementes reduz as diferenças no potencial hídrico existente entre as sementes e a solução de hidratação, principalmente nas primeiras horas, sendo possível reduzir o efeito do dano por rápida embebição (RODRIGUES et al., 2006).

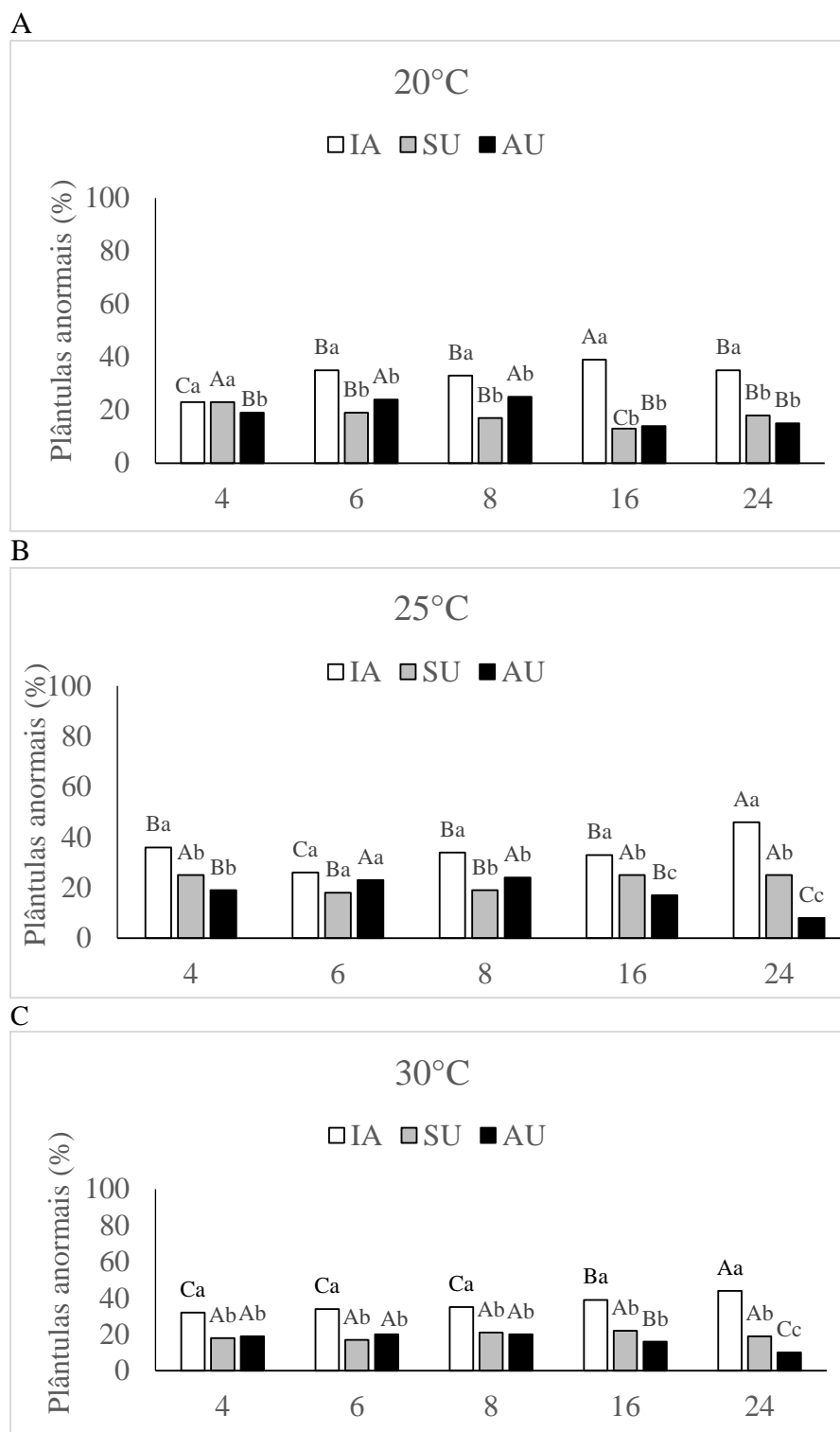


Figura 4. Plântulas anormais (%) de soja cultivar M6410 IPRO provenientes de sementes submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos (h). Letras minúsculas comparam diferentes métodos de pré-condicionamento dentro do mesmo período. Letras maiúsculas comparam os mesmos métodos de pré-condicionamento em períodos diferentes. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



Para as temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C, o método de imersão em água apresentou o maior resultado de plântulas anormais (Figura 5A), sendo que a embebição direta em água associada à temperatura de 30°C proporcionou o maior resultado de plântulas anormais (Figura 5A). Esses resultados indicam que os danos por embebição foram mais acentuadas na temperatura mais elevada, possivelmente devido ao aumento das reações metabólicas das sementes que ocorrem com a elevação da temperatura. Resultados semelhantes foram verificados com 4 horas e com 16 horas de embebição das sementes na temperatura de 20°C, que proporcionou os maiores resultados de plântulas anormais (Figura 5B).

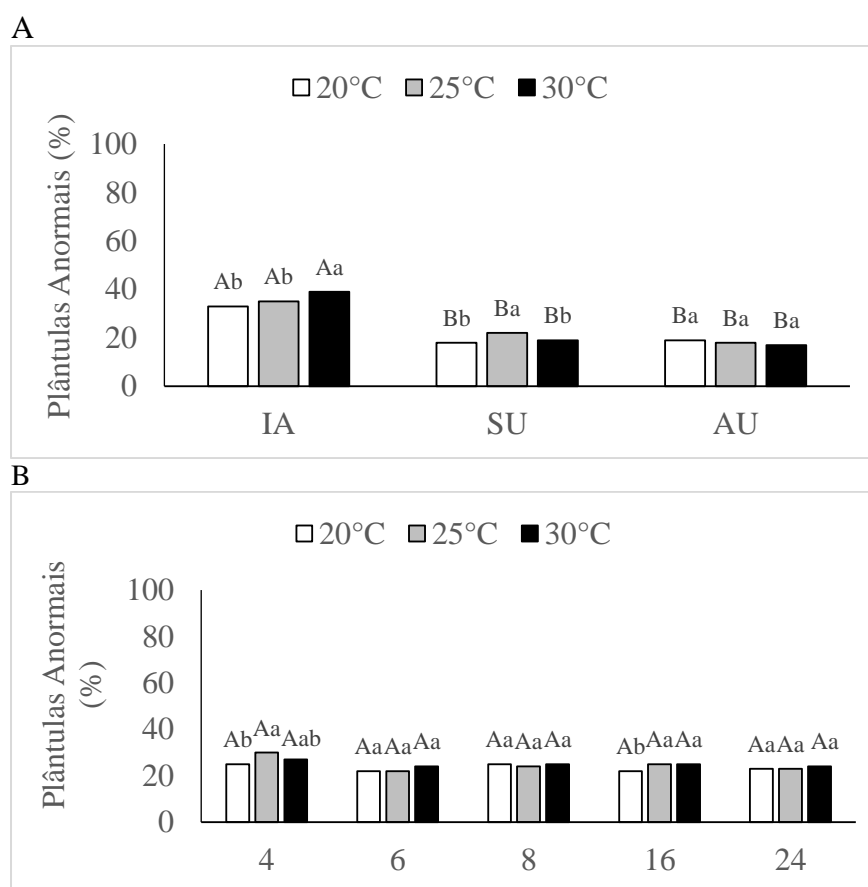


Figura 5. Plântulas anormais (%) de soja cultivar M6410 IPRO provenientes de sementes submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas. A - Letras maiúsculas comparam a mesma temperatura em diferentes métodos. Letras minúsculas comparam temperaturas diferentes no mesmo método B - Letras maiúsculas comparam a mesma temperatura em diferentes períodos. Letras minúsculas comparam diferentes temperaturas no mesmo período. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para a emergência a campo, houve interação significativa entre os métodos de pré-condicionamentos, períodos e temperaturas (Figura 6A, 6B e 6C). O método

com substrato úmido foi superior aos demais, exceto nos períodos de 6 e 8 h, indicando que a dinâmica da absorção de água das sementes em solo ocorre de maneira distinta do que em substrato de papel. Nesse sentido, a prévia embebição das sementes pode ter atuado como um condicionamento fisiológico. A técnica de condicionamento fisiológico em sementes de soja, embora ainda não seja utilizada comercialmente, pode ser empregada em pequenos volumes de sementes quando em processo de deterioração e, nesses casos, o condicionamento fisiológico pode ser promissor no estabelecimento de plântulas (SILVA et al., 2016).

Na imersão de sementes em água à temperatura de 30°C verificou-se a menor emergência em relação aos demais métodos (Figura 7A). No entanto, quando se considera somente o período de 24 horas sob 30°C observou-se maior emergência a campo em detrimento da temperatura de 20°C que proporcionou a menor emergência a campo (Figura 7B).

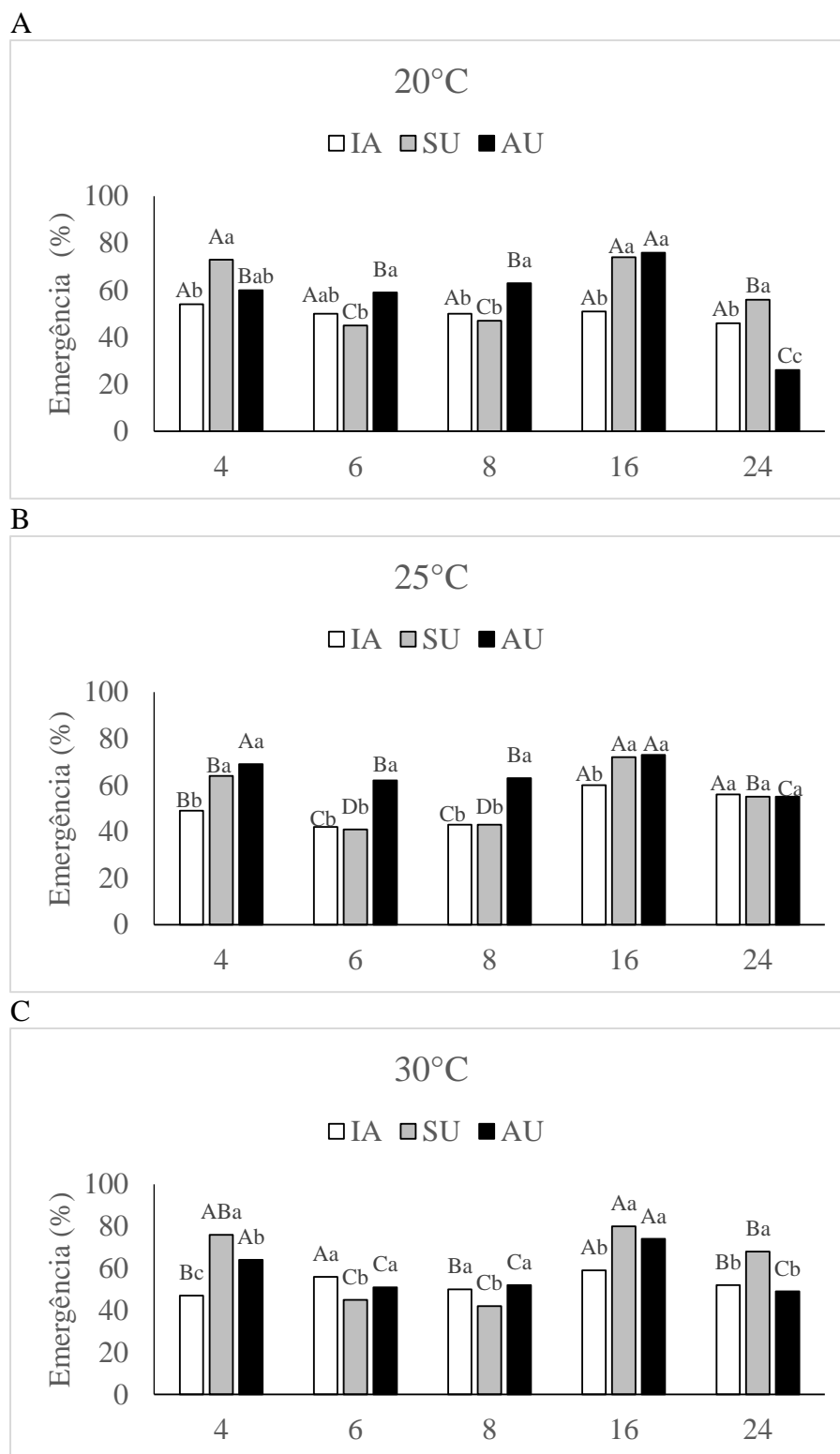


Figura 6. Emergência em campo (%) de sementes de soja da cultivar M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos (h). Letras minúsculas comparam diferentes métodos de pré-condicionamento dentro do mesmo período. Letras maiúsculas comparam os mesmos métodos de pré-condicionamento em períodos diferentes. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

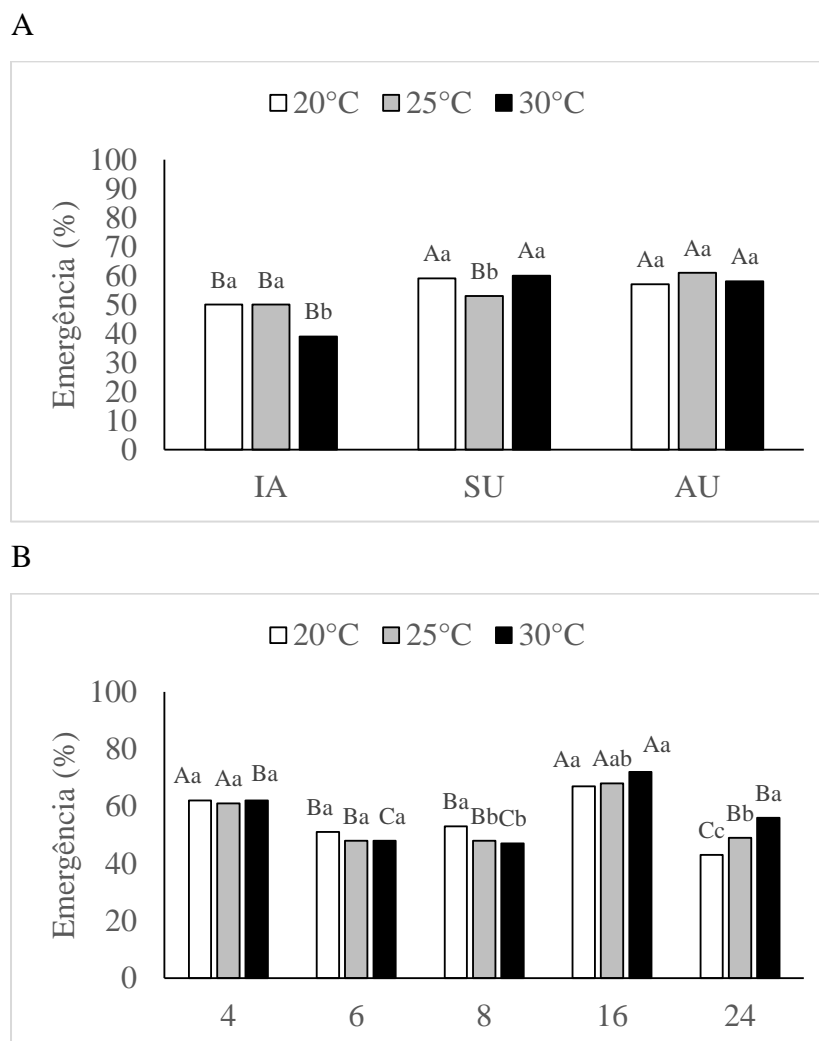


Figura 7. Emergência em campo (%) de sementes de soja da cultivar M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas. A - Letras maiúsculas comparam a mesma temperatura em diferentes métodos. Letras minúsculas comparam temperaturas diferentes no mesmo método. B - Letras maiúsculas comparam a mesma temperatura em diferentes períodos. Letras minúsculas comparam diferentes temperaturas no mesmo período. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Houve interação significativa entre os métodos de pré-condicionamento, os períodos e as temperaturas para a condutividade elétrica das sementes (Figura 8A, 8B e 8C). Com a imersão direta em água e a atmosfera úmida em 25°C, verificou-se que os menores resultados ocorreram no início do condicionamento das sementes, sendo que para o substrato úmido não houve diferenças entre os períodos (Figura 8B). Vale ressaltar, que durante a imersão direta o período de exposição influenciou sobremaneira a lixiviação de solutos; durante o início da embebição (4 horas) o

resultado foi superior em comparação com o período subsequente de 6 horas, determinando que as primeiras horas de embebição constituam as mais severas para a ocorrência dos danos por embebição.

A velocidade em que ocorre o processo de absorção de água varia de acordo com o teor de água inicial da semente, da temperatura do ambiente e da taxa de absorção de água. O tegumento da semente de soja influencia na permeabilidade das membranas e pode variar de acordo com a espessura e composição química. Assim, espécies e cultivares podem apresentar diferenças na velocidade de penetração de água. A variação no conteúdo de lignina no tegumento da semente, tem relação com a embebição, pois a alta lignificação do tegumento dificulta o processo de absorção de água e a perda de substâncias que podem ser lixiviadas (CAVARIANI et al., 2009).

Ainda, com a imersão da semente em água ocorre lixiviação dos seus solutos citoplasmáticos no meio líquido, sendo proporcional ao nível de desorganização das membranas e inversamente proporcional à velocidade das membranas se reorganizarem. A elevada concentração de solutos sinaliza redução do vigor das sementes, devido à deterioração e aos danos por embebição, os quais interagem entre si, pois sementes mais deterioradas são mais propensas aos danos por embebição e, conseqüentemente, ocorre aumento de lixiviados na água de imersão (BARBIERI et al., 2012).

A temperatura de 30°C apresentou a maior lixiviação para imersão em água e menor para o substrato úmido. Para a atmosfera úmida não houve diferenças significativas entre as temperaturas (Figura 9A). Resultados semelhantes à emergência em campo foram observados para a condutividade elétrica com o período de 24 horas; a temperatura de 30°C determinou menor condutividade elétrica e com a temperatura de 20°C verificou-se o maior resultado (Figura 9B). Esses resultados indicam que a temperatura mais baixa durante a embebição prolongada prejudica o desempenho das sementes, e que podem acentuar os danos por embebição, ao induzirem danos na membrana celular e afetarem as funções fisiológicas das células (GUAN et al., 2009).

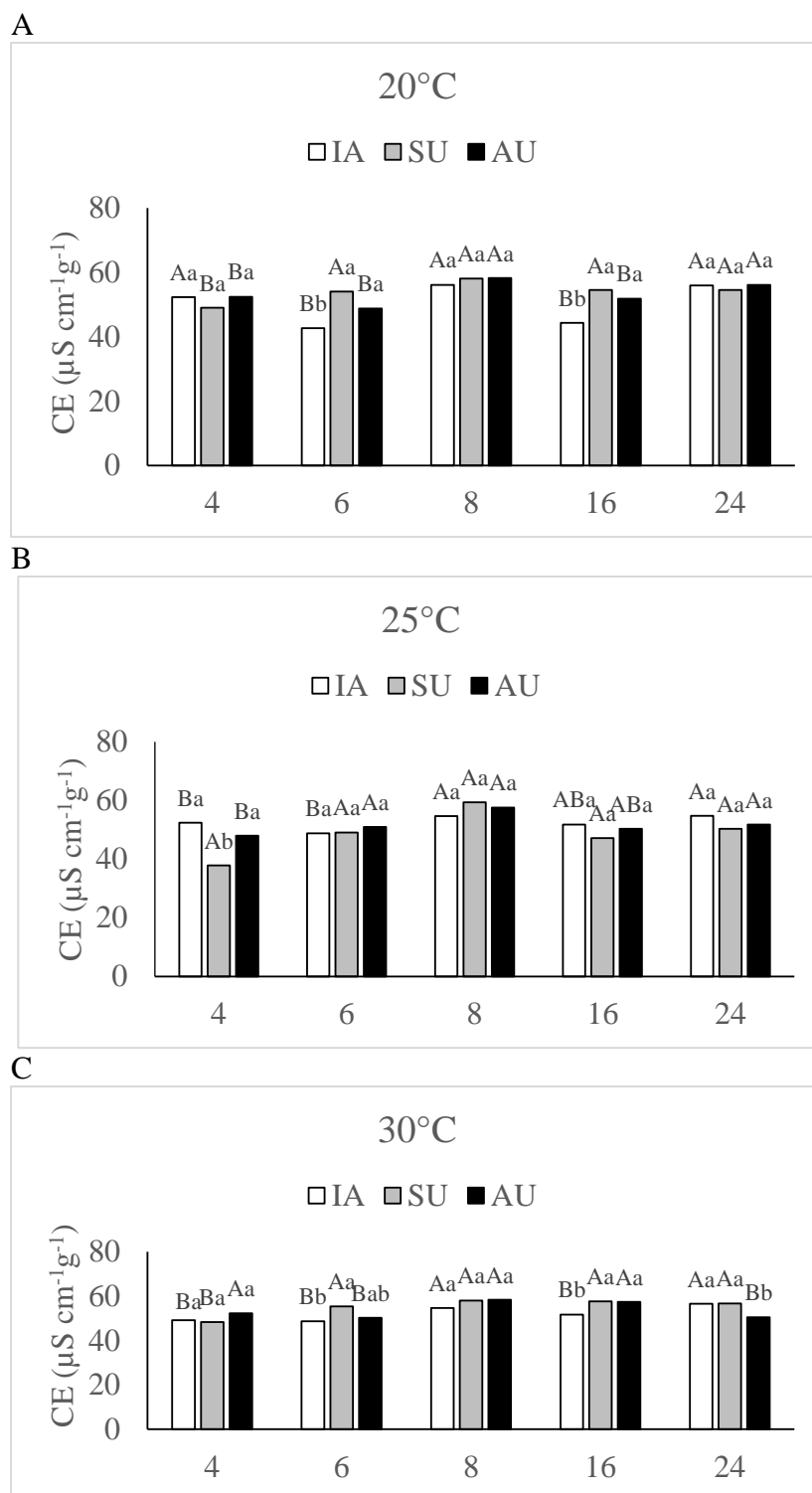


Figura 8. Condutividade elétrica (CE) ( $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) de sementes de soja da cultivar M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos (h). Letras minúsculas comparam diferentes métodos de pré-condicionamento dentro do mesmo período. Letras maiúsculas comparam os mesmos métodos de pré-condicionamento em períodos diferentes. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

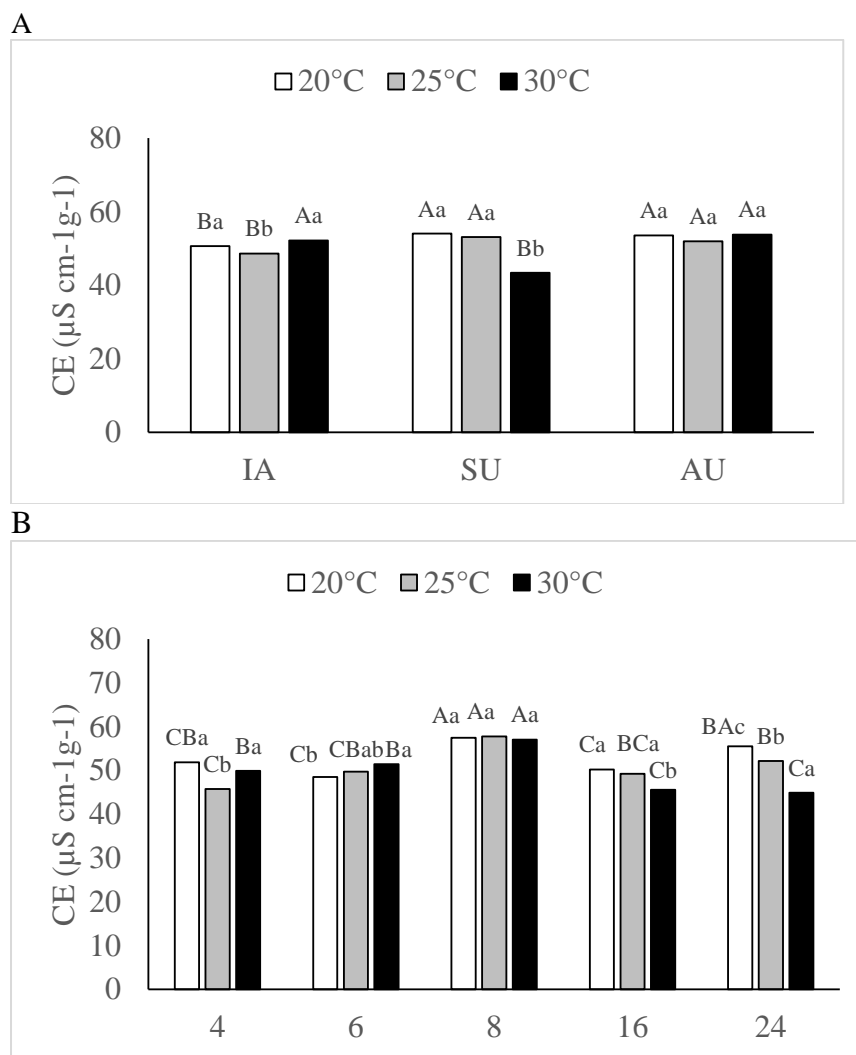


Figura 9. Condutividade elétrica (CE) ( $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) de sementes de soja da cultivar M6410 IPRO submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas. A - Letras maiúsculas comparam a mesma temperatura em diferentes métodos. Letras minúsculas comparam temperaturas diferentes no mesmo método. B - Letras maiúsculas comparam a mesma temperatura em diferentes períodos. Letras minúsculas comparam diferentes temperaturas no mesmo período. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

### 4.3 Métodos de pré-condicionamento de sementes - Cultivar BMX Potência RR

Houve interação significativa entre os métodos de pré-condicionamento e os períodos de exposição para a germinação das sementes (Figura 10). Assim como verificado para a cultivar M6410 IPRO, a imersão direta em água prejudicou a germinação das sementes da cultivar BMX Potência RR, sobretudo com o aumento do

período de imersão. Conforme Bahry et al. (2017), ao submeter a cultivar BMX Potência RR à imersão das sementes em água antes do teste de germinação pode ocorrer uma redução do número de plântulas normais, demonstrando que a cultivar possui certa sensibilidade quando exposta diretamente à água. Entretanto, os resultados de germinação obtidos com o controle (substrato úmido) e a atmosfera úmida foram semelhantes entre si, sugerindo um comportamento de tolerância das sementes à embebição rápida (Figuras 10). Esses resultados indicam que o teste de germinação de sementes da cv. BMX Potência RR pode ser conduzido sem a prévia utilização da técnica de pré-condicionamento.

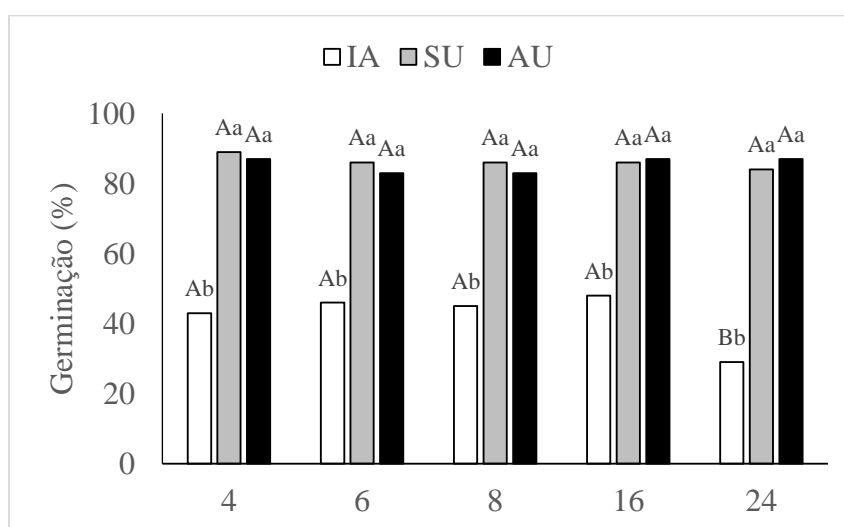


Figura 10. Germinação (%) de sementes de soja da cultivar BMX Potência RR submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos (h). Letras minúsculas comparam diferentes métodos de pré-condicionamento dentro do mesmo período. Letras maiúsculas comparam os mesmos métodos de pré-condicionamento em períodos diferentes. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Observou-se interação significativa entre os métodos de pré-condicionamento e os períodos para as plântulas anormais (Figura 11). Não foram observadas diferenças entre o substrato úmido (controle) e a atmosfera úmida, porém o método de imersão em água aumentou a formação de plântulas anormais, indicando que embora caracterizada como tolerante aos danos por embebição, as sementes da cv. BMX Potência RR também apresentam certa sensibilidade à imersão direta em água (Figura 11). Verificou-se interação significativa entre as temperaturas e os períodos; houve maior número de plântulas anormais no período de 16 horas com a temperatura



de 20°C (Figura 12). Temperaturas menores podem ser consideradas fatores limitantes na germinação, por induzirem danos na membrana celular (GUAN et al., 2009).

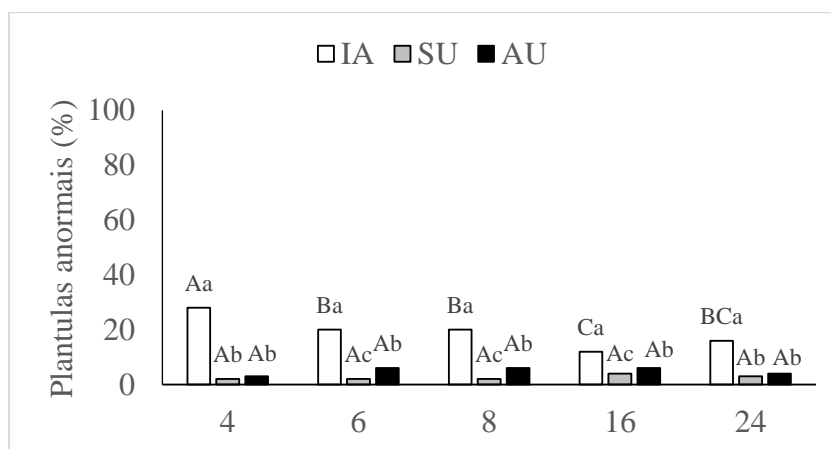


Figura 11. Plântulas anormais (%) de sementes de soja da cultivar BMX Potência RR submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos (h). Letras minúsculas comparam diferentes métodos de pré-condicionamento dentro do mesmo período. Letras maiúsculas comparam os mesmos métodos de pré-condicionamento em períodos diferentes. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

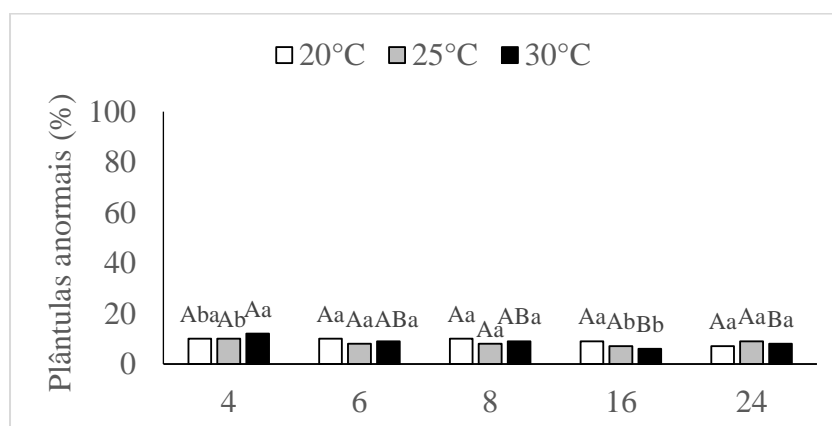


Figura 12. Plântulas anormais (%) de sementes de soja da cultivar BMX Potência RR submetidas ao pré-condicionamento em diferentes períodos (h) e temperaturas (C°). Letras maiúsculas comparam a mesma temperatura em diferentes períodos. Letras minúsculas comparam diferentes temperaturas no mesmo período. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Verificou-se interação significativa entre os métodos de pré-condicionamento e os períodos para a emergência em campo (Figura 13), sendo verificado que a imersão em água e o substrato úmido associado ao menor período (4 horas) apresentou os menores resultados de emergência (Figura 13).

Por outro lado, com 24 horas de pré-condicionamento observou-se que o método de atmosfera úmida também proporcionou baixa emergência de plântulas em comparação aos demais períodos (Figura 13). Esses resultados sugerem que o período mais prolongado do pré-condicionamento pode causar certo prejuízo ao desempenho das sementes pertencentes às cultivares tolerantes aos danos por embebição, possivelmente, devido ao condicionamento das sementes em ambiente com alta umidade. Como as sementes que são tolerantes aos danos por embebição não necessitam de um longo período (24 horas) para reparar os danos provocados pela entrada de água, durante o prolongamento da exposição das sementes em atmosfera úmida ocorre a lenta hidratação dos tecidos da semente, porém, sem que a semente atinja o teor de água necessário para iniciar o processo germinativo.

As sementes não dormentes, como as de soja, submetidas à hidratação lenta, sem, no entanto, atingir o teor de água para desencadear a germinação poderiam estar sujeitas à deterioração. Os resultados obtidos evidenciam essa suposição; durante 4 horas de pré-condicionamento, a atmosfera úmida foi superior em relação ao substrato úmido (controle); no entanto, com 24 horas não houve diferença com o substrato úmido (Figura 13), indicando que o prolongamento do método pode ter determinado uma condição adversa à manutenção do potencial fisiológico das sementes. Giurizatto et al. (2008), observou que sementes embebidas em substrato úmido por 20 e 24 horas de embebição apresentaram melhores resultados na emergência em campo, verificando a existência de benefícios relacionados a técnica.

Observou-se interação significativa entre as temperaturas e os períodos para a emergência a campo (Figura 14). Com a temperatura de 25°C foi observado o menor resultado de emergência somente no período de 4 horas de pré-condicionamento. Para a temperatura de 20°C foi observado que o pré-condicionamento durante 4 horas e 24 horas proporcionaram menor resultado de emergência (Figura 14).

Assim, novos estudos poderiam ser conduzidos para elucidar o comportamento de sementes tolerantes à embebição rápida quando submetidas ao pré-condicionamento, na tentativa de confirmar se ocorrem danos durante o aumento do período do pré-condicionamento e a influência da temperatura.

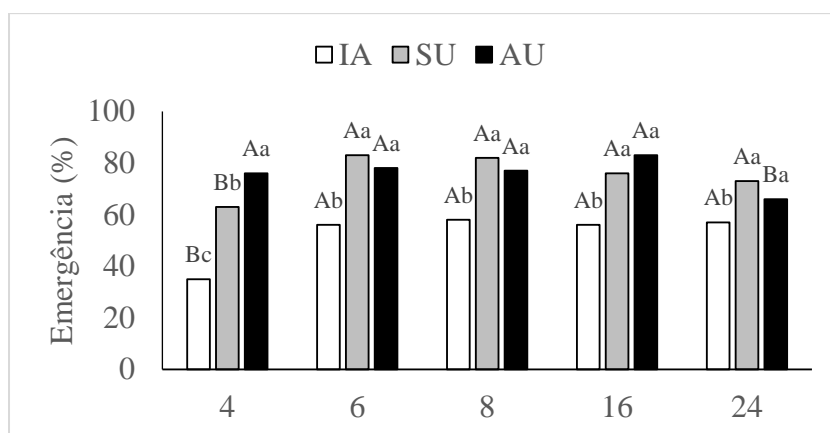


Figura 13. Emergência em campo (%) de soja da cultivar BMX Potência RR submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes períodos (h). Letras minúsculas comparam diferentes métodos de pré-condicionamento dentro do mesmo período. Letras maiúsculas comparam os mesmos métodos de pré-condicionamento em períodos diferentes. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

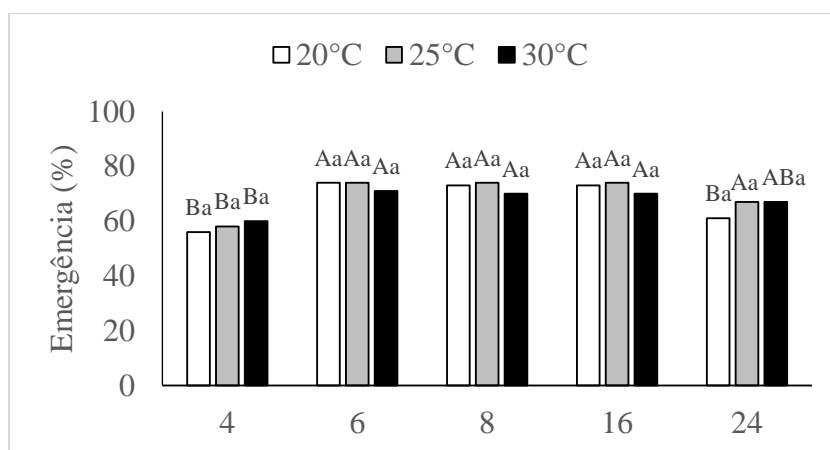


Figura 14. Emergência em campo (%) de soja da cultivar BMX Potência RR submetidas ao pré-condicionamento em diferentes períodos (h) e temperaturas. Letras maiúsculas comparam a mesma temperatura em diferentes períodos. Letras minúsculas comparam diferentes temperaturas no mesmo período. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Observou-se interação significativa entre os métodos de pré-condicionamento e as temperaturas para a emergência em campo (Figura 15), sendo observado que em todas as temperaturas avaliadas (20°C, 25°C e 30°C), o método de imersão direta em água proporcionou baixa emergência em relação aos demais métodos. Esses resultados indicam que a embebição direta das sementes em água

influencia negativamente na emergência em campo e sugerem a ocorrência de danos por embebição, pela entrada abrupta de água (Figura 15).

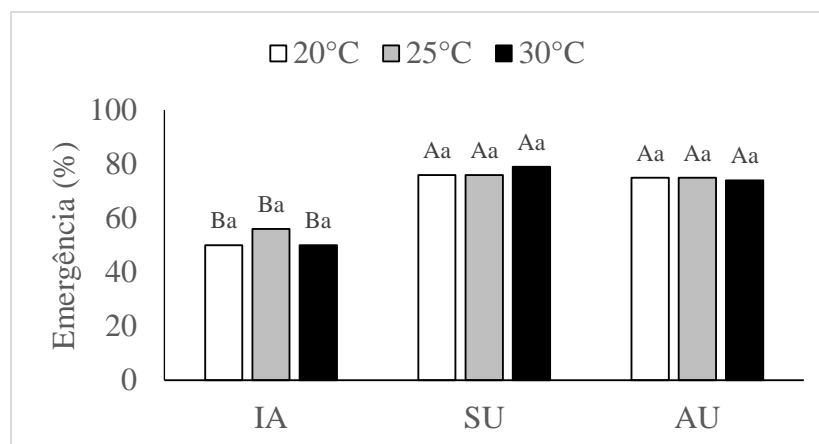


Figura 15. Emergência em campo (%) de soja cultivar BMX Potência RR submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas. Letras maiúsculas comparam a mesma temperatura em diferentes métodos. Letras minúsculas comparam temperaturas diferentes no mesmo método. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. (A).

Houve interação significativa entre os métodos de pré-condicionamento e as temperaturas para a condutividade elétrica das sementes (Figura 16). Com o substrato úmido associado a temperatura de 25°C observou-se menor condutividade elétrica (CE) em comparação com as demais temperaturas. Verificou-se que as temperaturas de 20°C e 25°C não diferiram significativamente para o método atmosfera úmida e apresentaram maior condutividade elétrica em relação à temperatura de 30°C.

Observou-se que nas temperaturas de 20°C e 25°C, o método atmosfera úmida determinou maior condutividade elétrica das sementes em comparação aos demais métodos, já para a temperatura de 30°C foi observado maior condutividade com o substrato úmido, em comparação aos demais métodos. As sementes de soja quando apresentam baixo teor de água e são submetidas à hidratação resultam em um maior número de plântulas anormais e maiores valores de condutividade elétrica, caracterizando o dano por embebição (SILVA e VILLELA, 2011).

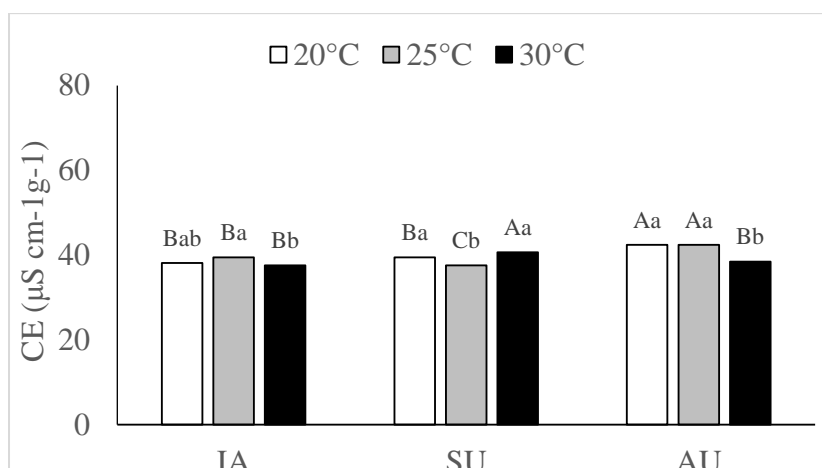


Figura 16. Condutividade elétrica (CE) ( $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) de sementes de soja da cultivar BMX Potência RR submetidas ao pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas. Letras maiúsculas comparam a mesma temperatura em diferentes métodos. Letras minúsculas comparam temperaturas diferentes no mesmo método. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.4 Curva de absorção de água

Verificou-se que as sementes da cultivar M6410 IPRO submetidas aos tratamentos de pré-condicionamento apresentaram acentuada absorção de água nas primeiras quatro horas (Figura 17). Conforme o padrão trifásico de hidratação, na fase I, ocorre uma rápida entrada de água em função da diferença de potencial hídrico entre a semente e o substrato (BEWLEY e BLACK, 1994). O método de imersão em água apresentou uma rápida entrada de água já nas primeiras horas, em todas as temperaturas avaliadas, indicando que nesse método o período para que ocorra o reparo das membranas é insuficiente, acentuando os danos por embebição (Figuras 17A, 17B e 17C).

Nos métodos de substrato úmido (controle) e atmosfera úmida, as sementes apresentaram comportamento de absorção de água de maneira semelhante durante as primeiras seis horas sob as temperaturas de 25°C e 30°C (Figuras 17A e 17B, respectivamente). Esses resultados indicam que seja necessário o prolongamento do tempo, para 24 horas, durante a técnica de pré-condicionamento sob atmosfera úmida para a efetivação da organização e de reparos do conteúdo celular. De acordo com MARCOS FILHO (2015), os estresses que ocorrem durante o período de rápida absorção de água, devido à grande diferença de potenciais hídricos entre a semente e

o substrato, interferem na organização dos constituintes celulares, principalmente das membranas.

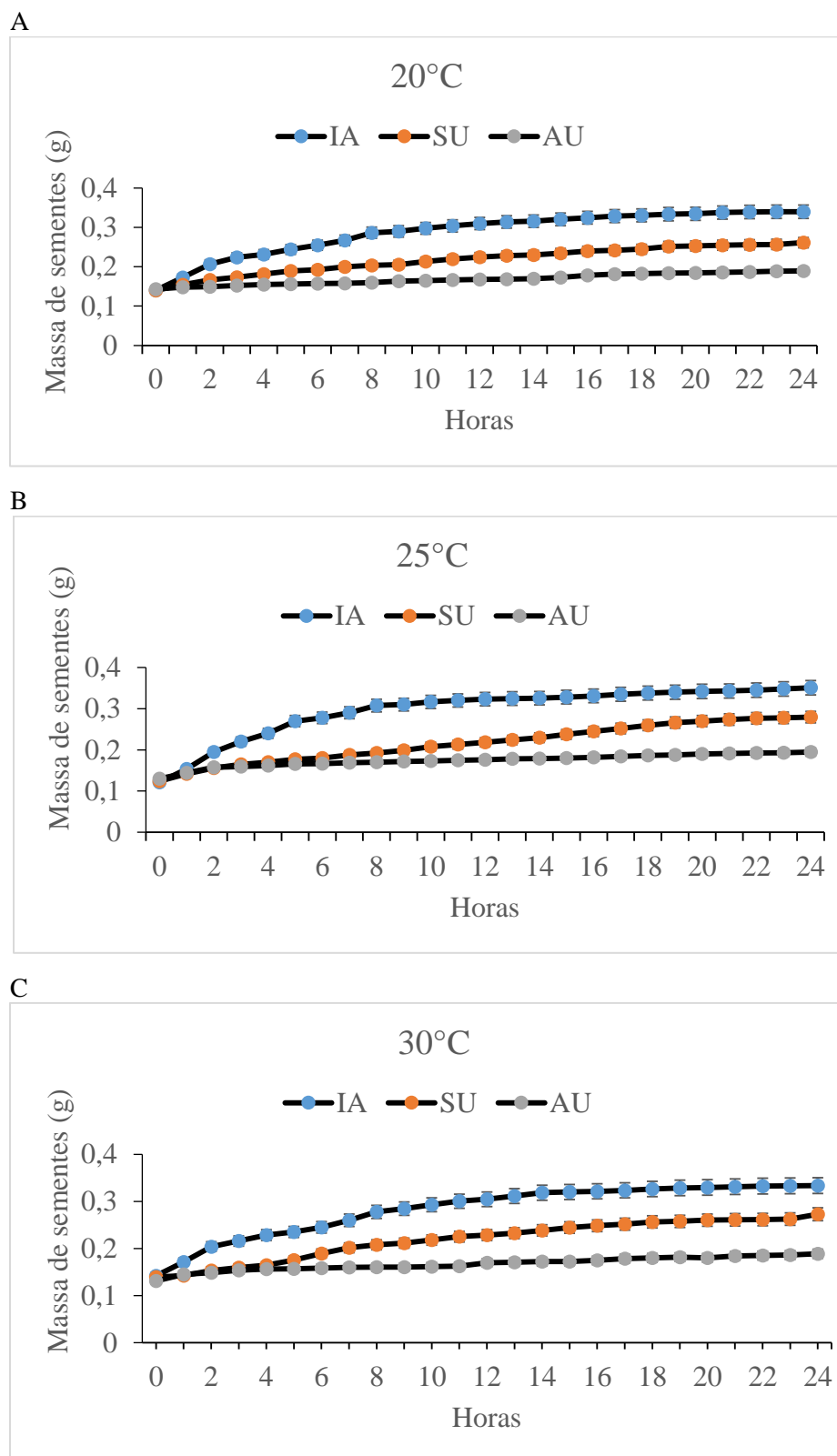


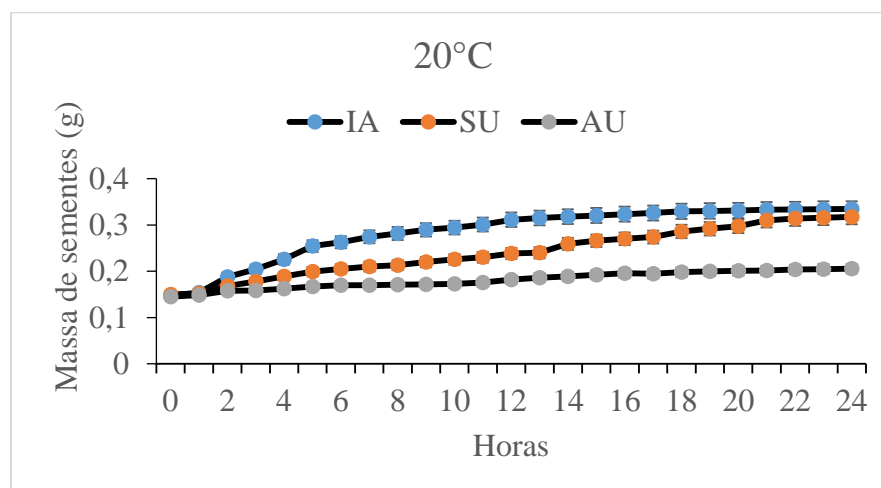
Figura 17. Curva de absorção de água de sementes de soja da cv. M6410 IPRO durante o pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas.

Em todas as temperaturas avaliadas, com o método de imersão em água, a absorção de água pelas sementes foi mais acentuada em relação aos demais métodos (Figura 18). Esse comportamento está de acordo com o baixo desempenho das sementes verificado com o teste de germinação (Figuras 10 e 11).

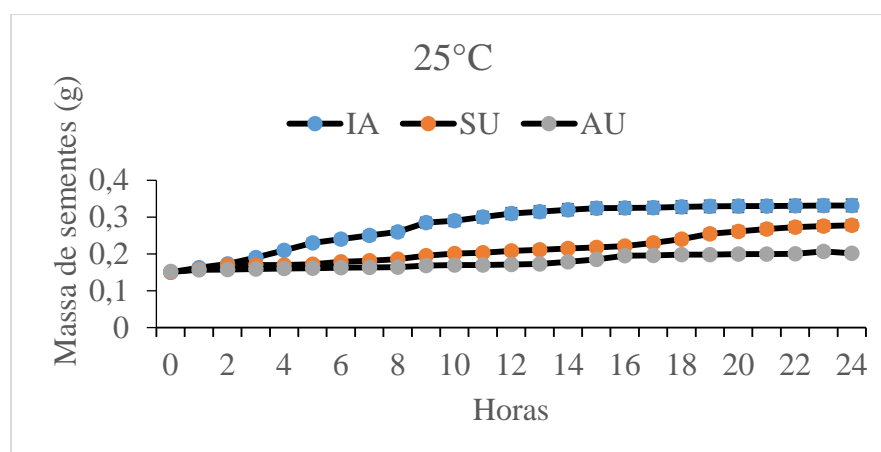
Com os métodos de substrato úmido e atmosfera úmida, as sementes da cv. BMX Potência apresentaram comportamentos distintos, principalmente durante as primeiras 15 horas, sob as temperaturas de 25°C (Figura 18B) e 30°C (Figura 18C). Com a temperatura mais elevada, observou-se maior entrada de água no interior das sementes expostas ao substrato úmido, embora não tenham sido verificadas diferenças entre esses dois métodos na germinação das sementes (Figura 10).

Existe uma relação entre a velocidade de entrada de água e a temperatura; assim, com o aumento da temperatura, as atividades metabólicas também são aumentadas. Esses resultados sugerem que existe um mecanismo eficiente de reparos durante as primeiras horas de embebição em água pelas sementes da cv. BMX Potência RR, determinado pelas diferenças genéticas entre as cultivares de soja. De acordo com Cavariani et al. (2009), a absorção de água pela semente também pode variar em decorrência do conteúdo de lignina no tegumento da semente do cultivar, influenciado pelo fator genótipo.

A



B



C

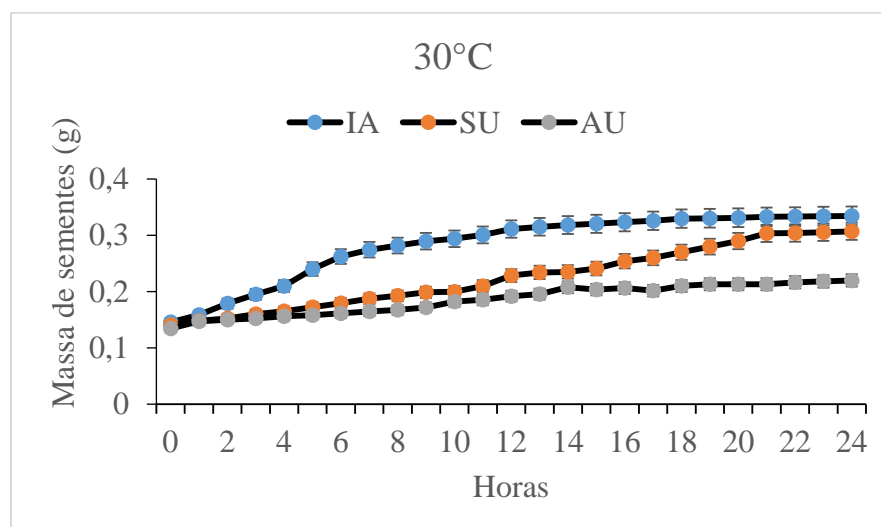


Figura 18. Curva de absorção de água de sementes de soja da cv. BMX Potência RR, durante o pré-condicionamento por imersão em água (IA), substrato úmido (SU) e atmosfera úmida (AU) em diferentes temperaturas



#### 4.5 Análise citológica

As análises de aberrações cromossômicas têm sido amplamente utilizadas, para avaliar os efeitos genotóxicos de agentes químicos e também para avaliar seus mecanismos de ação sobre o material genético dos organismos expostos. Assim, esse procedimento pode ser eficiente para investigar os impactos dos danos por embebição rápida em sementes de soja da cultivar M6410 IPRO em nível citogenético.

Houve influência significativa dos métodos de pré-condicionamentos sobre o índice de morte celular da cultivar BMX Potência RR e sobre todas as características citogenéticas das sementes da M6410 IPRO (Quadro 3). De acordo com o índice mitótico (IM) da cultivar M6410 IPRO, verificou-se que as sementes submetidas ao método atmosfera úmida apresentaram maior número de células em divisão celular em comparação com os demais métodos (Quadro 3), evidenciando a necessidade do pré-condicionamento com hidratação lenta para a normalidade do processo germinativo das sementes desta cultivar.

O maior índice de morte celular (IMC) foi observado com o método de imersão em água para as duas cultivares, indicando que a rápida entrada de água para o interior das sementes provocou danos celulares irreversíveis, determinando a morte das células. Para as sementes da cultivar M6410 IPRO, os danos celulares observados foram caracterizados pelos resultados elevados de micronúcleos, decorrentes dos danos provocados pela embebição rápida, de acordo com o índice de mutagenicidade (IMT) (Quadro 3).

Quadro 3. Análise citológica de sementes de soja das cultivares M6410 IPRO e BMX Potência RR, submetidas a diferentes métodos de pré-condicionamento por um período de 24 horas. IM (índice mitótico), IMC (índice de morte celular), IAC (índice de aberrações cromossômicas) e IMT (índice de mutagenicidade).

| CULTIVAR        | MÉTODO | IM      | IMC     | IAC     | IMT    |
|-----------------|--------|---------|---------|---------|--------|
| BMX Potência RR | IA     | 12,07 b | 8,12 a  | 0,00 a  | 0,28 a |
|                 | SU     | 21,60 a | 2,98 b  | 0,04 a  | 0,10 a |
|                 | AU     | 22,00 a | 2,26 b  | 0,06 a  | 0,20 a |
| M6410 IPRO      | IA     | 12,09 b | 14,30 a | 0,00 b  | 0,98 a |
|                 | SU     | 13,84 b | 4,18 b  | 0,06 ab | 0,22 b |
|                 | AU     | 16,30 a | 2,06 b  | 0,12 a  | 0,34 b |

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Verificou-se a ocorrência de danos nas células meristemáticas das raízes, caracterizados como anormalidades celulares que podem impedir a continuidade do crescimento radicular, uma vez que determinam a redução do tamanho e condensamento do núcleo, presença de micronúcleos, brotos celulares, distúrbios no ciclo mitótico e atraso cromossômico (Figura 19). Esses danos podem ser decorrentes do processo de embebição rápida de sementes e são indicativos de ocorrência de morte celular. As alterações celulares promoveram a anormalidade de plântulas de soja determinada, sobretudo, pelas injúrias ao sistema radicular.

A avaliação citológica se torna de fundamental importância, uma vez que tais análises fornecem um melhor conhecimento relacionado à ação de agentes no DNA (LEME e MARIN-MORALES, 2009). Nesse contexto, é necessário que o material genético permaneça íntegro para ocorrer a continuidade das ações vitais na célula, como a retomada do crescimento do embrião que determinará o desenvolvimento da plântula. No entanto, na fase de transição entre a embebição rápida das sementes e a germinação visível (determinada pela presença da plântula), ocorreram danos irreversíveis aos cromossomos (Figura 19), e/ ou estes não foram suficientemente reparados e que, por conseguinte, impediram a continuidade do ciclo mitótico para determinar o crescimento adequado das estruturas embrionárias.

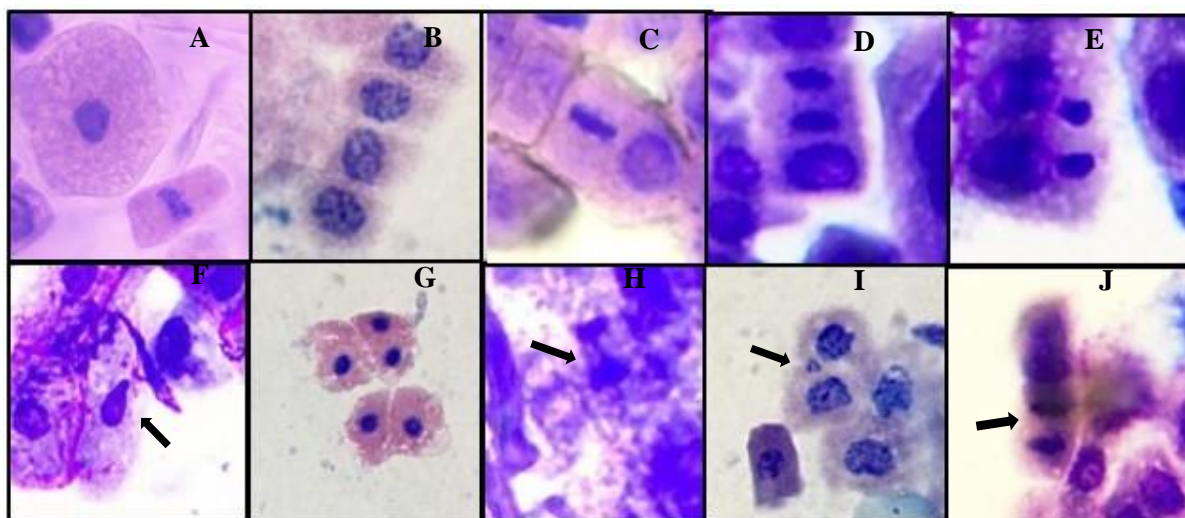


Figura 19. Células meristemáticas de soja submetidas ao pré-condicionamento: A) Interfase e metáfase regular, B) Prófase regular, C) Metáfase e prófase regular, D) Anáfase regular, E) Telófase regular, F) Broto nuclear, G) Núcleo condensado e reduzido, H) Ponte anafásica, I) Micronúcleo, J) Atraso cromossômico. Escala: 0,055 $\mu$ m.

O desenvolvimento de um organismo multicelular, como uma planta, está diretamente relacionado com os processos de divisão celular, crescimento e diferenciação (HARASHIMA e SCHNITTGER, 2010). No entanto, a entrada de água de forma abrupta nos tecidos internos das sementes de soja M6410 IPRO interferiu negativamente em um desses processos, prejudicando o desenvolvimento normal das plântulas. Alterações no DNA durante as etapas iniciais da embebição foram verificadas em sementes de girassol, determinado pelo polimorfismo (RAPD), sugerindo a ocorrência de pontos de mutação e/ou extensivos rearranjos do DNA (EL-MAAROUF-BOUTEAU et al., 2011). No entanto, não foram observados em trabalhos anteriores nenhuma caracterização citogenética dos danos decorrentes da embebição rápida.

As aberrações cromossômicas e a presença de micronúcleos observadas nas células da raiz primária estão relacionadas, respectivamente, com a genotoxicidade e mutagenicidade (LEME e MARIN-MORALES, 2009) decorrentes da embebição rápida, que promoveu efeitos tóxicos de ordem genética e irreversíveis. Os resultados obtidos com a prévia hidratação lenta das sementes antes de submetê-las ao contato direto com o substrato úmido podem impedir, ao menos parcialmente, que o material genético seja danificado de forma irreversível.

O conjunto de resultados permite avançar em um modelo para o entendimento dos eventos genéticos que ocorrem com as sementes de soja e seus ciclos

de hidratação-reidratação durante a embebição rápida. Vale destacar que esses eventos ocorrem com as sementes durante a condução de testes de germinação e também estão muito próximos daqueles que ocorrem durante o armazenamento das sementes e mesmo a sementeira em solo. Existe um caráter genético (determinado pelas diferenças entre cultivares de mesma espécie) para o controle dos danos tóxicos que ocorrem durante a embebição rápida em sementes de soja. Caso estes mecanismos não sejam eficientes e/ou são ausentes para efetuar os reparos, os danos genéticos que ocorrem nas etapas iniciais da embebição são irreversíveis e prejudicam o desenvolvimento das plântulas (WATERWORTH et al., 2015).

## 5. CONCLUSÕES

O pré-condicionamento das sementes de soja da cultivar M6410 IPRO é necessário para obter resultados confiáveis do teste de germinação em laboratório e é influenciado pelo período de exposição das sementes e pela temperatura. Quanto maior o tempo de pré-condicionamento em atmosfera úmida associado com as temperaturas de 25 e 30°C, maior é a eficiência para evitar os danos por embebição rápida.

A imersão direta em água acentua os danos por embebição rápida em sementes de soja, mesmo em cultivares consideradas tolerantes como a cultivar BMX Potência RR.

Os danos por embebição rápida em sementes de soja estão associados à ocorrência de anormalidades celulares e danos genéticos.

## 6. REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS – AOSA. **Seed vigour testing handbook**. East Lansing: AOSA, 93p. 1983.
- ATAÍDE, M. G.; BORGES, E. E. L.; GONÇALVES, J. F. C.; GUIMARÃES, V. M.; FLORES, A.V. Alterações fisiológicas durante a hidratação de sementes de *Dalbergia nigra* ((Vell.) Fr. All. ex Benth.). **Ciência Florestal**, v. 26, n. 2, 2016.
- BAHRY, C. A.; PERBONI, A. T.; NARDINO, M.; ZIMMER, P. D. Physiological quality and imbibitions of soybean seeds with contrasting coats. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 125-133, 2017.
- BALESTRAZZI, A.; CONFALONIERI, M.; MACOVEI, A.; CARBONERA, D. Seed imbibition in *Medicago truncatula* Gaertn.: Expression profiles of DNA repair genes in relation to PEG-mediated stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p. 706-713, 2011.
- BARBIERI, A. P. P.; MENEZES, N. L. D., CONCEIÇÃO, G. M.; TUNES, L. M. D. Evaluation of rice seed vigour by potassium leaching test. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 1, p. 117-124, 2012.
- BARBOSA, R. M.; COSTA, D.; SA, M. E. Accelerated aging of oleraceous species seeds. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 41, 3, str. 328-335, 2011.
- BARROS A. S. R.; DIAS, M. C. L. de L.; CÍCERO, S. M.; KRZYZANOWSKI, F. C. Testes de frio. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 218p.1999.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seed in relation to germination: viability, dormancy and environmental control**. Berlin: Springer-Verlag. 375 p. 1982.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum, 1994. 445 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 399 p. 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa N° 45, de 17 de setembro de 2013. Padrões para a produção e comercialização de sementes**. Brasília, Diário Oficial da União, 20 set. 2013. Seção 1.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP. 590p. 2012.
- CAVARIANI, C.; TOLEDO, M. Z.; RODELLA, R. A.; FRANÇA NETO, J. B.; NAKAGAWA, J. Velocidade de hidratação em função de características do tegumento de sementes de soja de diferentes cultivares e localidades. **Revista Brasileira de**

**Sementes**, v. 31, n. 1, p. 30-39, 2009.

CORBINEAU, F. Markers of seed quality: from present to future. **Seed Science Research**, v. 22, n. S1, p. 61-68, 2012.

COSTA, C. J.; VILLELA, F. A.; BERTONCELLO, M. R.; TILLMANN, M. A. A.; MENEZES, N. L. Pré-hidratação de sementes de ervilha e sua interferência na avaliação do potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 198-207, 2008.

DELOUCHE, J. Germinação, deterioração e vigor da semente. **Seed News**, Pelotas, n. 6, p. 24-31, 2002.

DE SOUZA, R. A. V., BRAGA, F. T., NETO, J. V., de MENDONÇA; AZEVEDO, P. H., CANÇADO, G. M. A. Viabilidade e germinação de embriões de oliveira submetidos a diferentes condições de armazenamento de frutos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 309-314, 2011.

DRESCH, D. M.; MASETTO, T. E.; SCALON, S. P. Q. Campomanesia adamantium (Cambess.) O. Berg seed desiccation: influence on vigor and nucleic acids. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 4, p. 2217-2228, 2015.

EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; MAZUY, C.; CORBINEU, F.; BAILLY, C. DNA alteration and programmed cell death during ageing of sunflower seed. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 14, p. 5003-5011, 2011.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; PADUA, G. P. de; LORINI, I.; HENNING, F. A. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. Londrina: Embrapa Soja. (Documentos, 380), 82 p. 2016.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. A importância do uso de sementes de soja de alta qualidade. **Informativo Abrates**, v. 20, n. 1-2, p. 37-38, 2010.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FINCH-SAVAGE, W. E.; BASSEL G. W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 3, p. 567-591, 2016.

FU, Y-B; AHMED, Z; DIEDERICHSEN, A. Towards a better monitoring of seed ageing under ex situ seed conservation. **Conservation Physiology**, v. 3, n. 1, 2015.

GIURIZATTO, M. I. K.; ROBAINA, A. D.; GONÇALVES, M. C.; MARCHETTI, M. E. Qualidade fisiológica de sementes de soja submetidas ao hidrocondicionamento. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 5, 2008.

GRIS, C. F.; PINHO, E. V. D. R. V.; ANDRADE, T.; BALDONI, A.; CARVALHO, M. L. D. M. Physiological quality and lignin content in the coat seeds of conventional

and RR transgenic soybean submitted to different harvest periods. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 2, p. 374-381, 2010.

GUAN, Y. J.; HU, J., WANG, X. J.; SHAO, C. X. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 10, n. 6, p. 427-433, 2009.

HARASHIMA, H.; SCHNITTGER, A. The integration of cell division, growth and differentiation. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 13, n. 1, p. 66-74, 2010.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; VAN AELST, A. C.; HEMMINGA, M. A. Imbibitional leakage from anhydrobiotes revisited. **Plant, Cell and Environment**, v. 22, p. 1121-1131, 1999.

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T. Crescimento inicial de soja em função do vigor das sementes. **Revista Brasileira de Agrocência**, v. 12, n. 2, p. 163-166, 2006.

KRANNER, I.; MINIBAYEVA, F. V.; BECKETT, R. P.; SEAL, C. E. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. **New Phytologist**, v. 188, n. 3, p. 655-673, 2010.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A. **A alta qualidade da semente de soja: fator importante para a produção da cultura**. Londrina: Embrapa Soja. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 136), 24p. 2018.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71-81, 2009.

MACOVEI, A.; PAGANO, A.; LEONETTI, P.; CARBONERA, D.; BALESTRAZZI, A.; ARAÚJO, S. S. Systems biology and genome-wide approaches to unveil the molecular players involved in the pre-germinative metabolism: implications on seed technology traits. **Plant cell reports**, v. 36, n. 5, p. 669-688, 2017.

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

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. Londrina: ABRATES, 660 p. 2015.

MARCOS FILHO, J. Importância do potencial fisiológico da semente de soja. **Informativo Abrates**, v. 23, n. 1, p. 21-24, 2013.

MARCOS-FILHO J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agrícola**, v. 72, n. 4, p. 363-374, 2015.

MARCOS FILHO, J. **Teste de envelhecimento acelerado**. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Eds.). Vigor de sementes: conceitos e



testes. Londrina: ABRATES, cap. 3, p. 1-24, 1999.

MARCOS FILHO, J. M.; KIKUTI, A. L. P.; LIMA, L. Procedures for evaluation of soybean seed vigor, including an automated computer imaging system. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n.1, p. 102-112, 2009.

MARCOS-FILHO, J. Testes de vigor: dimensão e perspectivas. **Seed News**, Pelotas, n. 1, 2011.

MARTINS, C. C.; MARTINELLI-SENEME, A.; CASTRO, M. M.; NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C.; Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de lotes de sementes de couve brócolos (*Brassica oleraceae* L. var. *Itálica* Plenck). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 2, p. 96-101, 2002.

MASETTO, T. E.; FRAIZ, A. C. R.; FARIA, J. M. R. Cell changes during the re-induction of desiccation tolerance in germinated seeds of *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 3, p. 254-258, 2016.

MASETTO, T. E.; QUADROS, J. B.; RIBEIRO, D. M.; REZENDE, R. K. S.; SCALON, S. P. Q. Effect of substrate water availability and seed moisture content on crambe germination. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 3, p. 511-519, 2011.

MENEGUETTI, D. U. O.; SILVA, F.C.; ZAN, R.A.; RAMOS, L.J. Adaptation of the micronucleus technique in *Allium cepa*, for mutagenicity analysis of the Jamari river valley, western Amazon, Brazil. **Journal Environment Analytic Toxicol**, v. 2, n. 127, p. 2161-0525, 2012.

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

OHLSON, O. C.; Accelerated ageing test for seed wheat evaluation. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 4, p. 118-124, 2010.

OSBORNE, D. J. Hazards of a germinating seed: available water and the maintenance of genomic integrity. **Israel Journal of Plant Sciences**, v. 48, p. 173-179, 2000.

PAPARELLA, S.; ARAUJO, S. S.; ROSSI, G.; WIJAYASINGHE, M.; CARBONERA, D.; BALESTRAZZI, A. Seed priming: state of the art and new perspectives. **Plant Cell Reports**, v. 34, n. 8, p. 1281-1293, 2015.

PARREIRA, J.; BALESTRAZZI, A.; FEVEREIRO, P.; ARAÚJO, S. Maintaining genome integrity during seed development in *Phaseolus vulgaris* L.: Evidence from a transcriptomic profiling study. **Genes**, v. 9, n. 10, p. 463, 2018.

PEREIRA, J. J. L.; BUITINK, J.; LALANNE, D.; ROSSI, R. F.; PELLETIER, S.; SILVA, E. A. A.; LEPRINCE, O. Molecular characterization of the acquisition of longevity during seed maturation in soybean. **PloS One**, v. 12, p. e0180282- e0180282, 2017.

PESKE, S. T.; VILLELA, F. A. (Org.); MENEGHELLO, Geri Eduardo (Org.). **Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos**. 3. ed. Pelotas: Editora e Gráfica da UFPel, v. 1, 573 p., 2012.

RODRIGUES, M. B. C.; VILLELA, F. A.; TILLMANN, M. Â. A. ; CARVALHO, R. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p. 168-181, 2006.

SANTOS, J. F.; ALVARENGA, R. O.; TIMÓTEO, T. S.; CONFORTO, E. D. C.; MARCOS FILHO, J.; VIEIRA, R. D. Physiological potential of soybean seed lots. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 4, p. 743 - 751, 2011.

SCHEEREN, B. R.; PESKE, S. T.; SCHUCH, L. O. B.; BARROS, A. C. A. Qualidade fisiológica e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 035-041, 2010.

SENA, D. D. A.; ALVES, E. U.; MEDEIROS, D. S. Seed vigor of maize cv. 'Sertanejo' by tests based on the performance of seedlings. **Ciência Rural**, v. 45, n. 11, p. 1910-1916, 2015.

SILVA, K. da R. G. da; VILLELA, F. A. Pre-hydration and evaluation of the physiological potential of soybean seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 2, p. 331-345, 2011.

SILVA, T. A.; DA SILVA, P. B.; DA SILVA, E. A. A.; NAKAGAWA, J.; CAVARINI, C. Seed Priming, Yield Components and Yield of Soybean. **Ciência Rural**, v. 46, p. 227-232, 2016.

SLIWINSKA, E. Nuclear DNA replication and seed quality. **Seed Science Research**, v. 19, n. 1, p. 15-25, 2009.

SCHUAB, S. R. P.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; FRANÇA-NETO, J. B.; MESCHÉDE, D. K.; ÁVILA, M. R. Germination test under water stress to evaluate soybean seed vigour. **Seed Science and Technology**, v. 35, n. 1, p. 187-199, 2007.

VARIER, A.; VARI, A. K.; DADLANI, M. The subcellular basis of seed priming. **Current Science**, v. 99, n. 4, p. 450-456, 2010.

VAZQUEZ, G. H.; CARVALHO, N. M. de; BORBA, M. M. Z. Effects of plant population reductions on yield and seed physiological quality of soybeans. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p. 1-11, 2008.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Teste de condutividade elétrica**. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. (Eds.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: Abrates, cap. 4, p. 1-26, 1999.

WATERWORTH, W. M.; BRAY, C. M.; WEST, C. E. The importance of safeguarding genome integrity in germination and seed longevity. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 12, p. 3549-3558, 2015.

WEITBRECHT, K.; MÜLLER, K.; LEUBNER-METZGER, G. First off the mark:

Early seed germination. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 10, p. 3289–3309, 2011.

ZUCARELI, C.; BRZEZINSKI, C. R.; ABATI, J.; WERNER, F.; RAMOS JUNIOR, E. U.; NAKAGAWA, J. Qualidade fisiológica de sementes de feijão carioca armazenadas em diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, p. 803-809, 2015.

ZUCARELI, C.; CAVARIANI, C.; PORTUGAL, G.; NAKAGAWA, J. Potencial fisiológico de sementes de milho hidratadas pelo método do substrato de papel toalha. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 3, p. 122-129, 2008.

ZUCARELI, C.; CAVARIANI, C.; OLIVEIRA, E. A. D. P.; NAKAGAWA, J. Métodos e temperaturas de hidratação na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 3, 2011.

## 7. ANEXOS

QUADRO 4. Análise de variância com as respectivas fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL) e quadrados médios para os caracteres avaliados, incluindo média geral e coeficiente de variação da caracterização dos lotes de sementes de soja da cultivar M6410 IPRO.

| FV          | GL | Quadrados Médios |        |       |         |         |         |        |        |        |        |          |            |
|-------------|----|------------------|--------|-------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|----------|------------|
|             |    | G                | PA     | IVG   | TF      | EA      | EM      | IVE    | CE     | CPPA   | CPR    | MSPA     | MSR        |
| Lotes       | 4  | 56,30*           | 32,50* | 2,19* | 882,80* | 670,30* | 153,32* | 17,45* | 68,21* | 99,97* | 63,26* | 0,01464* | 0,000068*  |
| Resíduo     | 15 | 20,33            | 7,26   | 0,42  | 79,73   | 49,73   | 20,03   | 0,57   | 14,56  | 0,54   | 0,51   | 0,000082 | 0,00000043 |
| Média Geral |    | 81               | 16     | 10    | 70      | 51      | 70      | 4,14   | 52,23  | 27,8   | 17,17  | 0,08747  | 0,01050    |
| Total       | 19 |                  |        |       |         |         |         |        |        |        |        |          |            |
| CV (%)      |    | 5,59             | 17,39  | 6,50  | 12,79   | 13,88   | 6,40    | 18,30  | 7,31   | 2,65   | 4,19   | 10,37    | 6,29       |

\*, significativo a 5% de probabilidade.

<sup>NS</sup>, Não significativo a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> – Germinação (G), plântulas anormais (PA), índice de velocidade de germinação (IVG), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA), emergência em campo (EM), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE), comprimento da parte aérea (CPPA), comprimento de raiz (CPR), massa da matéria seca de parte aérea (MSPA) e massa da matéria seca de raiz (MSR).

Quadro 5. Análise de variância com as respectivas fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL) e quadrados médios para os caracteres avaliados, incluindo média geral e coeficiente de variação da caracterização dos lotes de sementes de soja da cultivar BMX Potência RR.

| FV          | GL | Quadrados Médios |        |       |          |        |          |        |        |                    |       |         |          |
|-------------|----|------------------|--------|-------|----------|--------|----------|--------|--------|--------------------|-------|---------|----------|
|             |    | G                | PA     | IVG   | TF       | EA     | EM       | IVE    | CE     | CPPA               | CPR   | MSPA    | MSR      |
| Lotes       | 4  | 322,30*          | 29,55* | 9,46* | 1249,70* | 664,0* | 1178,50* | 10,81* | 21,50* | 2,40 <sup>NS</sup> | 5,98* | 0,3967* | 0,00531* |
| Resíduo     | 15 | 20,86            | 2,85   | 0,36  | 20,06    | 44,25  | 86,73    | 0,66   | 6,77   | 1,37               | 1,41  | 0,00724 | 0,00056  |
| Média Geral |    | 82               | 6      | 9,73  | 60       | 70     | 66       | 6,55   | 41,05  | 12,51              | 20,13 | 0,7612  | 0,0971   |
| Total       | 19 |                  |        |       |          |        |          |        |        |                    |       |         |          |
| CV (%)      |    | 5,59             | 28,37  | 6,19  | 7,48     | 9,54   | 14,22    | 12,39  | 6,34   | 9,37               | 5,90  | 11,18   | 24,47    |

\*, significativo a 5% de probabilidade.

<sup>NS</sup>, Não significativo a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> – Germinação (G), plântulas anormais (PA), índice de velocidade de germinação (IVG), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA), emergência em campo (EM), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE), comprimento da parte aérea (CPPA), comprimento de raiz (CPR), massa da matéria seca de parte aérea (MSPA) e massa da matéria seca de raiz (MSR).

Quadro 6. Análise de variância com as respectivas fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL) e quadrados médios para os caracteres avaliados, incluindo média geral e coeficiente de variação da caracterização dos lotes de sementes de soja da cultivar M6410 IPRO para os caracteres avaliados, incluindo média geral e coeficiente de variação dos métodos de pré-condicionamentos de sementes de soja da cultivar M6410 IPRO.

| FV                             | GL | Quadrados médios |           |           |          |
|--------------------------------|----|------------------|-----------|-----------|----------|
|                                |    | G                | PA        | E         | CE       |
| Temperatura                    | 2  | 177,46*          | 324,91*   | 504,61*   | 654,58*  |
| Métodos                        | 2  | 217214,97*       | 27870,50* | 4892,03*  | 721,35*  |
| Períodos                       | 4  | 794,59*          | 707,62*   | 15279,94* | 2606,20* |
| Temperaturas*Métodos           | 4  | 381,87*          | 584,73*   | 881,31*   | 1645,46* |
| Temperaturas*Períodos          | 8  | 250,68*          | 117,22*   | 886,42*   | 549,01*  |
| Métodos*Períodos               | 8  | 3035,00*         | 1473,06*  | 63,13,49* | 1003,11* |
| Métodos*Períodos* Temperaturas | 16 | 145,72*          | 269,04*   | 73,22*    | 602,90*  |
| Média Geral                    |    | 60               | 24        | 56        | 51,26    |
| Total                          | 44 |                  |           |           |          |
| CV (%)                         |    | 11,41            | 27,34     | 15,4      | 11,67    |

\*, significativo a 5% de probabilidade.

<sup>NS</sup>, Não significativo a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> – Germinação (G), Plântulas anormais (PA), emergência (EM), condutividade elétrica (CE).

Quadro 7. Análise de variância com as respectivas fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL) e quadrados médios para os caracteres avaliados, incluindo média geral e coeficiente de variação dos métodos de pré-condicionamentos de sementes de soja da cultivar BMX Potência RR.

| FV                             | GL | Quadrados médios     |                      |                      |                      |
|--------------------------------|----|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                                |    | G                    | PA                   | E                    | CE                   |
| Temperatura                    | 2  | 160,42*              | 81,96*               | 306,14*              | 108,25*              |
| Métodos                        | 2  | 189381,55*           | 23353,61*            | 54787,13*            | 0,061 <sup>ns</sup>  |
| Períodos                       | 4  | 1356,79*             | 324,23*              | 7712,73*             | 575,33*              |
| Temperaturas*Métodos           | 4  | 316,71 <sup>ns</sup> | 28,12 <sup>ns</sup>  | 499,00*              | 376,68*              |
| Temperaturas*Períodos          | 8  | 23,17 <sup>ns</sup>  | 100,33*              | 346,84*              | 0,041 <sup>ns</sup>  |
| Métodos*Períodos               | 8  | 1373,31*             | 939,53*              | 499,00*              | 0,0292 <sup>ns</sup> |
| Métodos*Períodos* Temperaturas | 16 | 126,28 <sup>ns</sup> | 106,26 <sup>ns</sup> | 229,42 <sup>ns</sup> | 0,052 <sup>ns</sup>  |
| Média Geral                    |    | 71                   | 9                    | 68                   | 39,56                |
| Total                          | 44 |                      |                      |                      |                      |
| CV (%)                         |    | 15,3                 | 18,3                 | 27,31                | 11,38                |

\*, significativo a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup>, Não significativo a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> – Germinação (G), Plântulas anormais (PA), emergência (EM), condutividade elétrica (CE).

Quadro 8. Análise de variância com as respectivas fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL) e quadrados médios para os caracteres avaliados, incluindo média geral análise citológica de sementes de soja das cultivares M6410 IPRO e BMX Potência RR, submetidas a diferentes métodos de pré-condicionamento.

| FV              | GL | Quadrados Médios |         |          |         |
|-----------------|----|------------------|---------|----------|---------|
|                 |    | IM               | IMC     | IAC      | IMT     |
| Cultivar*Método | 2  | 40,51*           | 28,11*  | 0,00233* | 0,2710* |
| Método          | 2  | 139,70*          | 236,89* | 0,02033* | 0,6043* |
| Cultivar        | 1  | 150,43*          | 42,96*  | 0,0053*  | 0,768*  |
| Resíduo         | 24 | 1,57             | 3,42    | 0,08400  | 0,0831  |
| Média Geral     |    | 16,31            | 5,65    | 0,00350  | 0,353   |
| Total           | 29 |                  |         |          |         |
| CV (%)          |    | 7,69             | 32,74   | 126,77   | 81,62   |

\*, significativo a 5% de probabilidade.

<sup>NS</sup>, Não significativo a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> – Índice Mitótico (IM), Índice de Morte Celular (IMC), Índice de Alterações Cromossômicas (IAC), Índice de Mutagenicidade (IMT).