

TESTES PARA AVALIAÇÃO RÁPIDA DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE SOJA¹

ALBERTO SERGIO DO REGO BARRROS² e JULIO MARCOS FILHO³

RESUMO - A avaliação da viabilidade de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), através de testes rápidos, vem sendo considerada como um recurso extremamente útil, no sentido de possibilitar aos produtores um controle de qualidade mais eficiente e dinâmico. Neste enfoque, o presente trabalho, conduzido no Laboratório de Análise de Sementes e no Campo Experimental da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, teve como objetivo principal a avaliação da eficiência comparativa de diferentes testes considerados rápidos para a determinação da viabilidade de sementes de soja. Foram utilizados os testes de tetrazólio 1-5 e do pH do exsudato-fenolftaleína, com 20 e 30 minutos de embebição, sendo que o teste de germinação e a emergência das plântulas em campo foram utilizadas como avaliações referenciais. A análise dos dados e a interpretação dos resultados permitiram concluir que os testes de tetrazólio 1-5 e do pH do exsudato-fenolftaleína, principalmente com 30 minutos de embebição, são eficientes na obtenção de informações rápidas e utilizáveis pelas entidades produtoras e em programas de controle de qualidade, embora esses testes tendam a superestimar a viabilidade de sementes com maior grau de deterioração.

Termos para indexação: *Glycine max*, qualidade de sementes, eficiência comparativa, análise de sementes.

QUICK TESTS FOR SOYBEAN SEEDS VIABILITY EVALUATION

ABSTRACT - The physiological quality of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seeds evaluated by quick tests of viability, became an important tool on the quality control program for the seed producers due its practicalness and effectiveness. Considering this point of view, this research was conducted at the Seed Laboratory and Experimental Field of the Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, of Universidade de São Paulo, SP, Brazil, with the main purpose to determine the effectiveness of some quick test for viability rating. The TZ test 1-5 and the exudate pH (phenolphthalein) with 20 and 30 minutes of imbibition were compared with standard germination and field emergence tests. From this study we can draw, the following conclusions: the TZ test 1-5 and the exudate pH 30 minutes of imbibition were efficient to produce information about soybean seeds viability, with restriction on the seed lot where the deterioration process has progressed due its overestimation of viability.

Index terms: *Glycine max*, seed quality, comparative efficiency, seed analyses.

INTRODUÇÃO

As sementes de soja são reconhecidamente problemáticas em termos de qualidade fisiológica, revelando alta sensibilidade às condições

de ambiente e ao manejo durante e após a colheita. Desta maneira, é freqüente o descarte de lotes que não atingem os padrões mínimos para comercialização. Desse modo, é interessante que as entidades produtoras disponham de recursos técnicos necessários para a avaliação rápida e eficiente da viabilidade, possibilitando o descarte de sementes de baixa qualidade, por ocasião da recepção ou durante o processamento, com diminuição acentuada da probabilidade de prejuízos econômicos, além da racionalização do manejo dos lotes de se-

¹ Aceito para publicação em 16 de maio de 1990.

² Eng.-Agr., M.Sc., Área Técnica de Sementes, Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), Caixa Postal 1331, CEP 86001 Londrina, PR.

³ Eng.-Agr., Dr., Prof. Titular, Dep. de Agríc., ESALQ/USP, Caixa Postal 09, CEP 13400 Piracicaba, SP.

mentes e da utilização mais eficiente da infraestrutura existente.

A viabilidade é determinada principalmente através do teste de germinação, cuja metodologia tem sido aprimorada, resultando um alto nível de reprodutibilidade e confiabilidade (Perry 1981). Entretanto, apesar de sua ampla utilização, o teste de germinação tem sido alvo para várias críticas. A principal é que normalmente os resultados diferem da emergência em campo, pelo fato de o teste ser realizado em condições favoráveis, nem sempre observadas em condições de campo. Por outro lado, França Neto et al. (1986) também ressaltaram as limitações do teste de germinação em sementes de soja; além do período relativamente longo para sua execução, o teste não permite a identificação precisa dos fatores que afetam a qualidade das sementes, e seus resultados são frequentemente mascarados pela presença de fungos *Phomopsis* sp. e *Fusarium semitectum*.

No entanto, sem dúvida, o fator tempo é uma das grandes limitações do teste de germinação. De acordo com as prescrições das Regras para Análise de Sementes, Brasil (1980), o teste para sementes de soja pode estender-se até 8 dias após a semeadura. Assim, é justificável uma tendência para a intensificação da pesquisa visando o desenvolvimento de testes rápidos para avaliação da viabilidade das sementes, principalmente devido às vantagens que a rapidez dos resultados proporciona nos diversos segmentos da produção (Franco et al. 1984 e França Neto et al. 1986).

Através do exame da literatura sobre o assunto, observa-se que atualmente os testes rápidos que mais estão sendo estudados e desenvolvidos, estão relacionados com os eventos iniciais da seqüência de deterioração proposta por Delouche & Baskin (1973), como a degradação das membranas celulares e a redução das atividades respiratórias e biossintéticas, podendo indicar uma maior sensibilidade desses testes em relação ao de germinação.

Esses testes geralmente se baseiam na coloração dos tecidos vivos das sementes, em função de alterações na atividade respiratória, caso específico do teste de tetrazólio, ou na

permeabilidade das membranas, avaliando parâmetros relacionados à liberação de metabólitos durante a embebição das sementes, como as alterações no pH do exsudato das sementes.

O teste de tetrazólio, considerado rápido, vem sendo adotado em escala crescente na avaliação da qualidade fisiológica das sementes de soja no Brasil, principalmente em decorrência de uma maior divulgação e também pelo maior número de cursos e treinamentos específicos ministrados por instituições de ensino e pesquisa. Segundo Woodstock (1973), dentre os testes bioquímicos, o teste de tetrazólio é o que tem mais evoluído no sentido de ser utilizado rotineiramente em laboratórios de análise de sementes.

Uma das principais vantagens do teste de tetrazólio é a de possibilitar a avaliação da viabilidade das sementes em poucas horas, fator fundamental, por exemplo, em programas de controle de qualidade (Grabe 1976). No caso específico de sementes de soja, a obtenção dos resultados não excede o período de 24 horas. MacKay (1972) apontou outra vantagem do teste, pelo fato de ser menos influenciado, durante a sua execução, pelas condições do ambiente do que o teste de germinação, reduzindo inclusive problemas com microrganismos.

Estudos comparativos conduzidos por Johnson & Wax (1978) e Yaklich & Kulik (1979) mostraram que o teste de tetrazólio, para a determinação da viabilidade de sementes de soja, se correlacionou com a emergência das plântulas no campo. Por outro lado, Pasha & Das (1982) compararam a viabilidade de sementes de soja, através do teste de tetrazólio, com os resultados provenientes do teste de germinação e destacaram uma clara associação entre eles; os autores ainda consideraram o teste seguro, confiável e apropriado para determinar a capacidade de germinação de um lote de sementes de soja.

O teste de tetrazólio também possibilita determinar o vigor das sementes (Woodstock 1973, McDonald Junior 1975, Popinigis 1985 e França Neto et al. 1986), bem como diagnosticar os problemas que causam a perda da

qualidade, particularmente em sementes de soja, como os danos provocados por umidade, ferimentos mecânicos, danos provocados pelo ataque de insetos (percevejos) e danos causados por secagem (Moore 1972, Pereira 1974 e França Neto et al. 1986).

Por outro lado, a necessidade de informações rápidas sobre a qualidade fisiológica das sementes tem proporcionado o desenvolvimento de testes promissores, como, por exemplo, os relacionados com o pH do exsudato das sementes após um determinado período de embebição.

Franco et al. (1984) desenvolveram o denominado teste de timerosal, que possibilitou a determinação da viabilidade de sementes de soja em um período de aproximadamente 24 horas. De acordo com os autores, a reação proporcionada pela adição de timerosal (Merthiolate) à água onde as sementes estavam embebidas individualmente, originou duas colorações: a laranja brilhante, representando as sementes viáveis e, a avermelhada, representando as sementes deterioradas. Ainda segundo os autores, as alterações de coloração observadas ocorreram em função do pH dos exsudatos das sementes.

Entretanto, Amaral & Peske (1984) determinaram a viabilidade de sementes de soja em períodos mais curtos, através do teste do pH do exsudato-fenolftaleína. Os autores trabalharam com sementes embebidas individualmente em três períodos: 20, 30 e 40 minutos a 25°C, sendo que após o período de embebição, foram-lhes adicionadas, em cada compartimento individualizado, uma gota de solução de carbonato de sódio e uma gota de solução de fenolftaleína. Com base na reação dos exsudatos das sementes, os autores consideraram como viáveis as sementes cujos exsudatos se apresentavam com a coloração rosa forte e as que apresentavam exsudatos de coloração rosa fraco ou incolor como não viáveis. Os autores também concluíram, com base nos resultados obtidos, que o período de 30 minutos foi o mais eficiente para estimar o poder germinativo de sementes de soja. Por outro lado, Peske & Amaral (1986) verificaram que o limite que

indica a viabilidade ou não de sementes de soja foi representado por $\text{pH} = 5,8$; esse resultado foi obtido após embebição individual das sementes por 20 horas a 25°C.

Diante do exposto, o presente trabalho foi planejado e conduzido com o objetivo principal de avaliar a eficiência comparativa dos testes considerados rápidos para a determinação da viabilidade de sementes de soja, procurando-se novos subsídios que permitam indicar os testes mais adequados para utilização por parte das entidades produtoras, bem como em programas de controle de qualidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes e no Campo Experimental do Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, estado de São Paulo. O período experimental teve início em setembro de 1986, estendendo-se até julho de 1987, com as avaliações sendo realizadas em intervalos aproximadamente bimestrais.

Para a realização da pesquisa, foram utilizadas sementes básicas de soja, cultivares Paraná, BR-6 e Bossier, provenientes da Fundação Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR -, produzidas na região de Ponta Grossa, PR, no ano agrícola 1985/86. Cada cultivar foi representada por 7 (sete) lotes, perfazendo um total de 21 lotes.

As sementes foram armazenadas durante o período experimental em condições naturais, no Laboratório de Análise de Sementes da ESALQ, com registro diário da temperatura e umidade relativa do ar através de termohigrógrafo.

As épocas de avaliação foram denominadas, no presente trabalho, de: E₁: setembro/outubro 1986; E₂: dezembro 1986; E₃: fevereiro/março 1987; E₄: abril/maio 1987 e E₅: junho/julho 1987, quando os lotes foram amostrados e submetidos às seguintes determinações:

a. **Germinação:** realizada com 200 sementes (4 amostras de 50 sementes) para cada lote, semeadas em rolo de papel toalha Germitest e colocadas para germinar em aparelho regulado para manter constante a temperatura de 30°C durante o transcorrer do teste. O volume de água utilizado para a embebição foi equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato.

As contagens foram realizadas aos 4 e 7 dias após a sementeira e, as avaliações, efetuadas segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil 1980); computaram-se as percentagens de plântulas normais para cada amostra, obtendo-se dados médios por lote.

b. Tetrazólio: para esse teste, utilizaram-se 4 amostras de 50 sementes de cada lote, que foram acondicionadas em papel toalha umedecido, a 30°C e ambiente úmido (germinador), durante 16 horas. Decorrido este período, as sementes foram transferidas para copinhos de plástico (para café), imersas em solução a 0,075% de sal de tetrazólio (cloreto 2-3-5 trifênil tetrazólio) e mantidas durante 4 horas no interior de uma estufa a 40°C. Após o desenvolvimento da coloração, as sementes foram lavadas em água corrente e avaliadas individualmente, segundo os critérios propostos por França Neto et al. (1986). A viabilidade foi representada pela soma das percentagens das sementes pertencentes às classes de 1 a 5 (TZ 1-5) e, a perda da viabilidade, caracterizando o dano por umidade como causa da redução da qualidade das sementes, pelas classes de 6 a 8 (TZ 6-8 U). Os resultados foram expressos em percentagem média por lote.

c. pH do exsudato-fenolftaleína: conduzido com 400 sementes de cada lote (100 por repetição), sendo empregada basicamente a metodologia desenvolvida por Amaral & Peske (1984), inclusive quanto à concentração dos produtos químicos utilizados. As sementes foram colocadas individualmente em alvéolos ou compartimentos isolados, utilizando-se, para esta finalidade, bandejas comuns de plástico branco normalmente empregadas para a fabricação de bombons caseiros. Cada compartimento, de fundo côncavo, apresentava 2,7 cm de diâmetro e 1,8 cm de profundidade. Em seguida foram adicionados em cada compartimento 2 ml de água destilada, com pH aproximadamente 6,5, de modo que cada semente permanecesse completamente submersa.

No presente trabalho foram estudados dois períodos de embebição: 20 e 30 minutos, em temperatura ambiente do laboratório. Decorridos esses períodos foram colocadas, em cada compartimento, 1 gota de solução de carbonato de sódio anidro e 1 gota de solução de fenolftaleína (com pesos médios, respectivamente, de 88 e 29 mg), seguindo-se agitação com auxílio de um bastonete de vidro.

A interpretação foi realizada com base na coloração resultante da reação dos exsudatos das sementes com as soluções utilizadas, após o período de embe-

bição. A percentagem de sementes viáveis correspondeu às seguintes colorações, interpretadas sob luz artificial (lâmpada fluorescente), denominadas vermelho-púrpura: 2,5 RP 5/12; 2,5 RP 6/12 e 2,5 RP 6/10 de acordo com o Munsell Book of Color (Kollmorgen Corporation, 1976). Em testes preliminares, as sementes que originavam exsudatos com essas colorações e, em seguida, submetidas ao teste de germinação, produziam plântulas normais. As demais colorações obtidas, vermelho-púrpura mais claras, como: 2,5 RP 7/10; 2,5 RP 8/6; 2,5 RP 8/4; 2,5 RP 9/2 e a incolor, foram consideradas como provenientes de sementes não viáveis, pois quando colocadas para germinar originavam plântulas anormais, ou simplesmente não germinavam. Os resultados foram expressos em percentagem média para cada lote.

d. Emergência das plântulas em campo: essa avaliação foi realizada com 400 sementes por lote; cada repetição de 100 sementes foi distribuída em um sulco com 4 m de comprimento, com 5 cm de profundidade e coberta com, aproximadamente, 2 cm de solo. A distância entre sulcos foi de 30 cm, e a sementeira sempre realizada em solo considerado suficientemente úmido. As contagens foram efetuadas aproximadamente aos 15 dias após a sementeira, determinando-se as percentagens de emergência. Computaram-se as plântulas que atingiram o estágio VC, ou seja, com os cotilédones acima da superfície do solo e com as folhas unifoliadas com as margens não mais se tocando, de acordo com a caracterização realizada por Costa & Marchezan (1982).

e. Grau de umidade das sementes: determinado pelo método da estufa, a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 24 horas, utilizando-se duas amostras por lote, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil 1980). Os resultados foram expressos em percentagem média para cada lote.

Procedimento estatístico: a análise da variância foi realizada para cada cultivar e avaliação (exceto a determinação do grau de umidade das sementes), segundo delineamento inteiramente casualizado, com parcelas subdivididas e 4 repetições. A comparação entre as médias foi efetuada através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Posteriormente, foram calculados os coeficientes de correlação simples (r) para todas as combinações entre os testes de laboratório e de campo, separadamente para cada lote; a significância dos valores de r foi determinada pelo teste T, aos níveis de 5% e 1% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido ao fato de os resultados terem evidenciado o mesmo desempenho entre todas as avaliações para as três cultivares estudadas, inclusive na separação de lotes segundo diferentes níveis de viabilidade e, com a finalidade de melhor visualização e facilidade de interpretação, serão apresentados somente os resultados referentes à cultivar Paraná.

Com relação aos dados do teste de germinação (Tabela 1), observou-se, de modo geral, que a partir da terceira época de avaliação (E₃) houve maior tendência de separação de lotes em diferentes níveis de germinação, embora na última época (E₅) não fossem detectadas diferenças significativas entre os lotes. Também, somente a partir da terceira época foi verificada redução nos valores obtidos, para todos os lotes, indicando que possuíam alta qualidade fisiológica. Ainda com base nos resultados do teste de germinação, foi observada uma tendência de o lote 5 apresentar o pior desempenho; em contrapartida, a separação

dos demais lotes não foi consistente ao longo do período experimental, pelo fato de eles terem apresentado comportamentos semelhantes.

Os resultados obtidos com o teste de tetrazólio 1-5 (Tabela 2) mostraram que apenas na terceira e quarta épocas (E₃ e E₄) foram encontradas diferenças significativas entre os lotes estudados. Com relação às épocas de avaliação, observou-se que a partir de E₃ ocorreram reduções significativas nos valores médios obtidos para os lotes 3, 5 e 7, enquanto os demais lotes apresentaram esse comportamento a partir de E₄. De uma maneira generalizada, os resultados revelaram uma leve tendência de caracterizar os lotes 5 e 7 como inferiores aos demais.

Comparando-se os resultados das duas avaliações, observou-se uma acentuada diferença, em termos numéricos, a favor do teste de tetrazólio 1-5 na quarta e quinta épocas. Segundo França Neto et al. (1986), diferenças de até 5% entre os dois testes para sementes de soja podem ser consideradas como normais, diferenças superiores podem ter como causa, entre

TABELA 1. Germinação: valores médios (%) obtidos para os lotes da cultivar Paraná durante o período experimental. Piracicaba, 1986/87.

Lotes	Épocas					Médias
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	
1	97 ABab	98 Aa	90 Ab	67 Ac	58 Ac	82 A
2	97 ABa	97 Aa	85 ABb	66 Ac	48 Ad	79 ABC
3	99 Aa	97 Aa	85 ABb	71 Ac	51 Ad	81 AB
4	92 Bab	95 Aa	84 ABb	66 Ac	48 Ad	77 BCD
5	98 ABa	92 Aa	79 Bb	50 Bc	46 Ac	73 D
6	93 Ba	94 Aa	86 ABa	71 Ab	48 Ac	78 ABCD
7	93 Ba	95 Aa	82 ABb	65 ABc	49 Ad	77 BCD
Médias	96 a	95 a	84 b	65 c	50 d	

Coef. variação (%) Lotes = 2,54 Coef. variação (%) Épocas = 6,69

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

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

TABELA 2. Teste de tetrazólio 1-5 (viabilidade): valores médios (%) obtidos para os lotes da cultivar Paraná durante o período experimental. Piracicaba, 1986/87.

Lotes	Épocas					Médias
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	
1	94 Aa	95 Aa	91 Aa	80 ABCb	80 Ab	88 A
2	95 Aa	94 Aa	92 Aa	83 Ab	80 Ab	89 A
3	95 Aab	96 Aa	90 ABb	82 ABc	78 Ac	88 A
4	96 Aa	93 Aa	92 Aa	76 ABCb	81 Ab	88 A
5	95 Aa	94 Aa	81 Cb	73 Cbc	72 Ac	83 B
6	94 Aa	92 Aa	92 Aa	76 ABCb	74 Ab	86 AB
7	94 Aa	94 Aa	84 BCb	74 BCc	75 Ac	84 B
Médias	95 a	94 a	89 b	78 c	77 c	

Coef. variação (%) Lotes = 1,82

Coef. variação (%) Épocas = 4,45

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

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

outras, a incidência de microrganismos durante o transcorrer do teste de germinação; o teste de tetrazólio é menos influenciado por tal tipo de problema. De fato, nas últimas duas épocas, quando as sementes apresentavam níveis de deterioração mais elevados, a incidência de microrganismos nos rolos do teste de germinação foi mais acentuada, chegando inclusive a dificultar a avaliação das plântulas, o que confirma uma das principais limitações deste teste (MacKay 1972 e França Neto et al. 1986).

Ainda de forma comparativa, os testes de germinação e tetrazólio 1-5 apresentaram a mesma tendência, quanto à sensibilidade, em separar os lotes em diferentes níveis de viabilidade. A análise de correlação (Tabela 3), efetuada para complementar as informações, por sua vez, permitiu verificar que os dados do teste de germinação correlacionaram-se positiva e altamente significativa com os do tetrazólio 1-5, para todos os lotes estudados; resultados semelhantes foram obtidos por Johnson & Wax (1978) e Pasha & Das (1982).

Por outro lado, o teste de tetrazólio também forneceu informações quanto à perda da viabilidade, com base nas sementes classificadas nos níveis de 6 a 8 (Tabela 4). Essa avaliação, efetuada de acordo com a metodologia proposta por França Neto et al. (1986), permitiu evidenciar que a causa da perda da viabilidade das sementes, ao longo do período experimental, foi atribuída aos danos de umidade, notadamente os lotes 4, 5, 6 e 7. Entretanto, observando-se as condições do ambiente de armazenamento (Tabelas 5 e 6) e também o grau de umidade das sementes ao longo das épocas de avaliação (Tabela 7), verificou-se que esse aumento de danos por umidade, atribuído com base nos sintomas apresentados pelas sementes, não foi somente devido à umidade e sim a efeitos de umidade e temperatura. Durante o período de armazenamento, o aumento de temperatura e as oscilações da umidade relativa do ar, atingindo às vezes valores próximos ou superiores a 80%, verificadas principalmente nos meses de outubro de 1986 a março de 1987, favoreceram a deterioração

TABELA 3. Coeficientes de correlação simples (r) entre os dados obtidos nos testes para avaliação da viabilidade das sementes de soja, conduzidos com os lotes da cultivar Paraná durante o período experimental. Piracicaba, 1986/87.

Testes	Lotes						
	1	2	3	4	5	6	7
Germin. X TZ 1-5	0,90**	0,83**	0,87**	0,78**	0,92**	0,87**	0,86**
Germin. X TZ 6-8 U	-0,90**	-0,87**	-0,90**	-0,77**	-0,93**	-0,83**	-0,85**
Germin. X Fenol. 20 min.	0,86**	0,70**	0,87**	0,81**	0,85**	0,83**	0,75**
Germin. X Fenol. 30 min.	0,78**	0,86**	0,62**	0,82**	0,88**	0,87**	0,66**
TZ 1-5 X TZ 6-8 U	-0,94**	-0,92**	-0,95**	-0,89**	-0,92**	-0,90**	-0,97**
TZ 1-5 X Fenol. 20 min.	0,80**	0,65**	0,91**	0,50*	0,86**	0,77**	0,60**
TZ 1-5 X Fenol. 30 min.	0,77**	0,81**	0,72**	0,57**	0,86**	0,74**	0,56**
TZ 6-8 U X Fenol. 20 min.	-0,79**	-0,66**	-0,84**	-0,48*	-0,88**	-0,72**	-0,62**
TZ 6-8 U X Fenol. 30 min.	-0,75**	-0,81**	-0,63**	-0,64**	-0,86**	-0,69**	-0,59**
Fenol. 20 min. X Fenol. 30 min.	0,72**	0,66**	0,82**	0,72**	0,89**	0,75**	0,78**
Em. Campo X Germin.	0,78**	0,94**	0,89**	0,87**	0,90**	0,83**	0,90**
Em. Campo X TZ 1-5	0,75**	0,83**	0,83**	0,72**	0,92**	0,75**	0,82**
Em. Campo X TZ 6-8 U	-0,84**	-0,89**	-0,83**	-0,74**	-0,91**	-0,81**	-0,82**
Em. Campo X Fenol. 20 min.	0,79**	0,61**	0,81**	0,69**	0,86**	0,67**	0,83**
Em. Campo X Fenol. 30 min.	0,76**	0,79**	0,53**	0,81**	0,90**	0,79**	0,84**

* Significativo pelo teste T ao nível de 5% de probabilidade.

** Significativo pelo teste T ao nível de 1% de probabilidade.

TABELA 4. Teste de tetrazólio 6-8 (perda da viabilidade por dano de umidade): valores médios (%) obtidos para os lotes da cultivar Paraná durante as épocas de avaliação. Piracicaba, 1986/87.

Lotes	Épocas					Médias
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	
1	0	0	5	16	18	8 BC
2	0	1	2	13	15	6 C
3	0	1	3	14	17	7 BC
4	0	3	5	20	16	9 AB
5	1	1	10	25	23	12 A
6	0	2	4	19	20	9 AB
7	1	1	8	20	19	10 AB
Médias	0 d	1 c	5 b	18 a	18 a	

Coef. variação (%) Lotes = 10,17

Coef. variação (%) Épocas = 27,84

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

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

TABELA 5. Temperaturas médias, máxima e mínima (°C) e umidade relativa do ar (%), valores médios por decênios, referentes ao ambiente de armazenamento das sementes de soja. Piracicaba, julho a dezembro de 1986.

Decênios	Temperatura (°C)			Umidade relativa (%)
	T média	T máxima	T mínima	
01 a 10.07.86	17,2	19,1	15,2	65,9
11 a 20.07.86	17,4	19,7	13,4	57,4
21 a 31.07.86	17,5	19,5	14,6	69,9
01 a 10.08.86	19,8	22,1	16,4	57,4
11 a 20.08.86	18,9	20,4	17,5	75,7
21 a 31.08.86	19,1	20,8	17,2	71,4
01 a 10.09.86	19,5	21,5	17,0	59,5
11 a 20.09.86	22,6	25,3	19,0	53,8
21 a 30.09.86	21,0	23,0	19,0	64,5
01 a 10.10.86	24,5	27,1	21,0	58,1
11 a 20.10.86	22,4	24,7	20,2	61,9
21 a 31.10.86	22,0	24,1	19,3	61,5
01 a 10.11.86	25,8	27,6	23,7	63,4
11 a 20.11.86	22,1	24,5	18,9	61,2
21 a 30.11.86	26,0	28,0	23,9	63,8
01 a 10.12.86	23,7	25,4	22,2	79,4
11 a 20.12.86	24,4	26,1	22,7	74,5
21 a 31.12.86	22,4	23,8	21,3	77,1

das sementes. Os danos de umidade, segundo a denominação proposta por França Neto et al. (1986), talvez também sejam devidos à ação conjunta da umidade e temperatura.

Os dados referentes à determinação do grau de umidade das sementes, ao longo das épocas de avaliação (Tabela 7), embora não tenham sido analisados estatisticamente, foram, em geral, semelhantes para todos os lotes estudados. Verificou-se, também, uma tendência de aumento nos valores obtidos por ocasião da última época, provavelmente devido às variações das condições de armazenamento. Considerando-se os valores obtidos por ocasião da coleta de amostras, verificou-se que, princi-

TABELA 6. Temperaturas média, máxima e mínima (°C) e umidade relativa do ar (%), valores médios por decênios, referentes ao ambiente de armazenamento das sementes de soja. Piracicaba, janeiro a julho de 1986.

Decênios	Temperatura (°C)			Umidade relativa (%)
	T média	T máxima	T mínima	
01 a 10.01.87	25,8	27,8	23,7	66,8
11 a 20.01.87	26,7	28,6	24,5	64,7
21 a 31.01.87	23,7	24,8	22,7	81,4
01 a 10.02.87	24,0	25,8	22,0	73,2
11 a 20.02.87	22,5	24,0	20,7	76,1
21 a 28.02.87	25,5	27,8	23,0	68,2
01 a 10.03.87	25,5	27,6	22,9	63,5
11 a 20.03.87	23,9	26,1	21,4	65,9
21 a 31.03.87	25,4	27,3	22,6	64,5
01 a 10.04.87	23,6	25,7	20,8	71,6
11 a 20.04.87	25,0	26,8	22,8	69,7
21 a 30.04.87	22,4	23,8	20,3	68,9
01 a 10.05.87	22,1	23,8	19,8	75,1
11 a 20.05.87	20,4	21,7	18,8	79,4
21 a 32.05.87	16,1	17,3	14,4	74,1
01 a 10.06.87	18,2	20,4	15,0	75,4
11 a 20.06.87	16,4	18,8	13,8	70,2
21 a 30.06.87	15,1	17,9	12,2	70,0
01 a 10.07.87	18,8	21,5	15,6	67,0
11 a 20.07.87	20,7	23,5	17,1	65,0
21 a 31.07.87	19,7	23,0	15,9	61,0

palmente da primeira à quarta época, a umidade das sementes se situou em um intervalo considerado satisfatório para armazenamento em condições de ambiente não controladas.

Com referência ao teste do pH do exsudato-fenolftaleína, verificou-se, utilizando o período de embebição de 20 minutos (Tabela 8), que a separação de lotes, quanto à viabilidade, só ocorreu nas duas últimas épocas (E₄ e E₅) e de maneira não uniforme; tal fato pode ser atribuído ao fato de os valores obtidos serem

TABELA 7. Grau de umidade: valores médios (%) obtidos para os lotes da cultivar Paraná durante o período experimental. Piracicaba, 1986/87.

Lotes	Épocas					Médias
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	
1	11,2	10,7	11,6	11,0	13,0	11,5
2	11,4	10,8	11,9	10,8	12,9	11,6
3	10,9	10,8	11,3	11,2	12,7	11,4
4	11,7	11,2	11,8	11,0	12,6	11,7
5	11,3	11,7	12,0	11,0	12,4	11,7
6	11,1	11,3	12,0	11,1	13,0	11,7
7	11,5	11,2	12,0	11,0	13,0	11,7
Médias	11,3	11,1	11,8	11,0	12,8	

semelhantes, mas os lotes 3, 5 e 7 foram os que apresentaram tendências de pior desempenho. Por outro lado, o mesmo teste realizado com 30 minutos de embebição (Tabela 9) detectou diferenças significativas entre os lotes em E₂ e E₄, com tendência de caracterizar o lote 5 como o de menor viabilidade em relação aos demais. Examinando-se o efeito de épocas, para os dois períodos de embebição, observou-se, de um modo geral, que o declínio mais acentuado da viabilidade para a maioria dos lotes ocorreu nas duas últimas épocas.

Em relação aos períodos de embebição estudados no teste do pH do exsudato-fenolftaleína, não foi suficientemente caracterizado qual o período que proporcionou uma separação mais eficiente dos lotes, provavelmente pelo fato de eles apresentarem pequenas diferenças de qualidade; entretanto com o período

TABELA 8. pH do exsudato (fenolftaleína) - 20 minutos de embebição: valores médios (%) de viabilidade obtidos para os lotes da cultivar Paraná durante o período experimental. Piracicaba, 1986/87.

Lotes	Épocas					Médias
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	
1	95 Aa	94 Aa	93 Aa	87 ABb	81 ABb	90 A
2	91 Ab	95 Aa	93 Aab	86 ABc	86 Ac	90 A
3	93 Aa	95 Aa	92 Aab	87 ABb	78 Bc	89 AB
4	91 Ab	96 Aa	90 Ab	90 Ab	82 ABc	90 A
5	93 Aa	93 Aa	89 Aab	83 Bbc	77 Bc	87 B
6	90 Aab	94 Aa	92 Aa	86 ABbc	80 ABc	88 AB
7	91 Aab	93 Aa	91 Aab	87 ABb	78 Bc	88 AB
Médias	92 b	94 a	91 b	87 c	80 d	
Coef. variação (%) Lotes = 1,41			Coef. variação (%) Épocas = 3,35			

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

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

TABELA 9. pH do exsudato (fenolftaleína) - 30 minutos de embebição: valores médios (%) de viabilidade obtidos para os lotes da cultivar Paraná durante o período experimental. Piracicaba, 1986/87.

Lotes	Épocas					Médias
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	
1	92 Aab	96 Aa	89 Ab	89 Ab	77 Ac	89 A
2	90 Aa	95 ABa	91 Aa	83 ABb	77 Ab	87 AB
3	88 Aab	93 ABCa	92 Aa	85 ABb	77 Ac	87 AB
4	92 Aa	93 ABCa	89 Aab	85 ABb	77 Ac	87 AB
5	91 Aa	91 BCa	86 Aab	81 Bb	72 Ac	84 C
6	90 Aa	91 BCa	87 Aa	87 ABa	78 Ab	87 AB
7	92 Aa	88 Cab	87 Aab	85 ABb	77 Ac	86 BC
Médias	91 ab	92 a	89 b	85 c	76 d	
Coef. variação (%) Lotes = 1,27			Coef. variação (%) Épocas = 3,83			

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

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

de 20 minutos, em geral, os valores obtidos foram maiores, numericamente, em relação aos obtidos com 30 minutos de embebição. Esse fato evidenciou a menor lixiviação do agente causador da redução do pH no exsudato das sementes, quando o teste é realizado em 20 minutos, confirmando as observações de Amaral & Peske (1984).

Outro fato observado com a realização do teste do pH do exsudato-fenolftaleína, principalmente com o período de 30 minutos de embebição, foram as alterações de colorações nos exsudatos das sementes a partir da terceira época. Nas três primeiras épocas, as sementes viáveis apresentaram, predominantemente, exsudatos de coloração vermelho-púrpura 2,5 RP 5/12, enquanto nas duas últimas épocas, essa categoria de sementes apresentou exsudatos de colorações ligeiramente mais claras: 2,5 RP 6/12 e 2,5 RP 6/10, de acordo com o Munsell Book of Color (Kollmorgen Corporation 1976). Esse fato comprova a maior liberação de substâncias em sementes de soja mais dete-

rioradas, o que indica maior permeabilidade das membranas (Abdul-Baki & Anderson 1973, Yaklich et al. 1979, McDonald Junior & Wilson 1980 e Schoettle & Leopold 1984); essas sementes também liberariam maior quantidade de íons H⁺, acidificando o meio, que, por sua vez, no teste do pH do exsudato-fenolftaleína, se traduz na obtenção do exsudato com colorações mais claras (Amaral & Peske 1984).

De modo comparativo, o teste do pH do exsudato-fenolftaleína, realizado com 30 minutos de embebição, apresentou tendência de comportamento semelhante ao do teste de germinação, no sentido de identificar o lote 5 como sendo o de menor qualidade fisiológica. Entretanto, nas duas últimas épocas de avaliação, o teste do pH do exsudato, com os dois períodos de embebição, sempre apresentou valores numéricos maiores em relação aos de germinação, podendo ser indicativo de que o teste superestima a viabilidade de sementes com maior grau de deterioração. Por outro lado, os dados

obtidos entre os testes do pH do exsudato-fenolftaleína com 20 e 30 minutos de embebição e os do teste de germinação, apresentaram correlação positiva e altamente significativa para todos os lotes.

Com referência aos dados obtidos com a emergência das plântulas em condições de campo (Tabela 10), foram detectadas diferenças significativas entre os lotes a partir da terceira época, com tendência de caracterizar o lote 5 como o de pior desempenho em relação aos demais. Analisando o efeito de épocas, observou-se que reduções significativas nos valores obtidos ocorreram a partir da terceira época, para, praticamente, todos os lotes.

Comparando-se os dados do teste de germinação com os obtidos na emergência das plântulas em campo, observou-se que o comportamento entre as duas avaliações foi relativamente semelhante no sentido de identificar o lote 5 como o de menor desempenho. O fato de o teste de germinação ter proporcionado, de um modo geral, informações próximas com relação à emergência em campo, em termos de

potencial relativo de cada lote, deve-se principalmente ao fato de a emergência ter sido favorecida pelas condições do ambiente em todas as épocas de avaliação; situações semelhantes foram verificadas por TeKrony & Egli (1977), Egli & TeKrony (1979) e Motta (1986). Complementando essas informações, verificou-se que a correlação obtida entre os dados das duas determinações foi positiva e altamente significativa para todos os lotes.

O teste de tetrazólio 1-5, por sua vez, em relação aos dados obtidos pela emergência das plântulas, na terceira e quarta época mostrou tendência de caracterizar os lotes 5 e 7 como de desempenho inferior ao dos demais; todavia, essa tendência em relação ao lote 7 não foi observada em condições de campo. Ainda comparando essas duas avaliações, observou-se que a partir da segunda época os dados obtidos com o teste de tetrazólio 1-5 foram numericamente maiores que os da emergência em campo, para todos os lotes, o que indica que a partir dessa época a viabilidade foi superestimada em relação ao desempenho em campo.

TABELA 10. Emergência em campo: valores médios (%) obtidos para os lotes da cultivar Paraná durante as épocas de avaliação. Piracicaba, 1986/87.

Lotes	Épocas					Médias
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	
1	95 Aa	87 Aa	72 Ab	66 Ab	42 Ac	72 A
2	95 Aa	89 Aa	77 Ab	61 Ac	47 Ac	74 A
3	93 Aa	88 Aa	54 Abc	59 Ab	40 ABc	67 AB
4	92 Aa	87 Aa	64 ABb	60 Ab	34 ABc	67 AB
5	92 Aa	89 Aa	49 Bb	42 Bb	26 Bc	60 B
6	94 Aa	83 Ab	64 ABc	61 Ac	37 Abd	68 AB
7	91 Aa	85 Aab	75 Ab	61 Ac	36 ABd	70 A
Médias	93 a	87 b	65 c	59 d	37 e	

Coef. variação (%) Lotes = 3,76

Coef. variação (%) Épocas = 7,65

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

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

Por outro lado, a correlação entre os dados das duas determinações foi positiva e altamente significativa para todos os lotes. Johnson & Wax (1978) e Yaklich & Kulik (1979) também verificaram essa mesma correlação entre as duas avaliações, em pesquisas com sementes de soja.

Com referência ao teste do pH do exsudato-fenolftaleína, em comparação com a emergência das plântulas em campo, verificou-se que o teste realizado com o período de 30 minutos de embebição foi o que apresentou a maior tendência de detectar o lote 5 como o de menor desempenho em relação aos demais; entretanto, principalmente a partir da terceira época, a viabilidade fornecida pelo teste para todos os lotes, considerando os dois períodos de embebição, foi superestimada em relação à emergência das plântulas. A análise de correlação, por sua vez, evidenciou que os dados obtidos no teste do pH do exsudato-fenolftaleína tanto para 20 como 30 minutos de embebição e os da emergência das plântulas em campo, correlacionaram-se de maneira positiva e altamente significativa para, praticamente, todos os lotes.

Analisando de uma forma conjunta os testes rápidos para avaliação da viabilidade de sementes de soja (teste de tetrazólio 1-5 do pH do exsudato-fenolftaleína), verificou-se que os testes mostraram aptidão para separar os lotes em diferentes níveis de viabilidade, além de fornecerem, de um modo geral, informações quanto ao potencial relativo de cada lote em termos de emergência de plântulas em campo. Entretanto, não foram constatadas, de maneira pronunciada, diferenças entre os testes quanto à sensibilidade em detectar a época em que se iniciou a redução da qualidade dos lotes estudados.

Assim, considerando-se os resultados dessa pesquisa, pode-se considerar que os testes rápidos para determinação da viabilidade podem fornecer informações de grande utilidade em diferentes etapas da produção; por exemplo, a utilização do teste do pH do exsudato-fenolftaleína por ocasião da recepção das sementes é válida, mesmo que em algumas situações su-

perestime a viabilidade; o teste demonstrou sensibilidade suficiente para detectar sementes de baixa qualidade, possibilitando, dessa forma, o descarte imediato desse material.

Finalmente, essa pesquisa confirmou as observações de TeKrony & Egli (1977) & Marcos Filho et al. (1984), segundo os quais o uso exclusivo da análise de correlação, em estudos comparativos dessa natureza, pode originar informações incompletas. Essa análise somente indica a variação de comportamento entre os dados avaliados, não fornecendo, por exemplo, indicações consistentes quanto às diferenças de qualidade observadas entre os lotes estudados.

CONCLUSÕES

1. Os testes de tetrazólio 1-5 e do pH exsudato-fenolftaleína, principalmente com 30 minutos de embebição, são eficientes na obtenção de informações rápidas e utilizáveis pelas entidades produtoras e em programas de controle de qualidade de sementes de soja.

2. Esses testes tendem a superestimar a viabilidade das sementes com maior grau de deterioração.

REFERÊNCIAS

- ABDUL-BAKI, A.A. & ANDERSON, J.D. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Sci.*, 13(6):630-3, 1973.
- AMARAL, A.S. & PESKE, S.T. pH do exsudato para estimar, em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. *R. bras. Sem.*, 6(3):85-92, 1984.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 1980. 188p.
- COSTA, J.A. & MARCHEZAN, E. **Características dos estádios de desenvolvimento da soja**. Campinas, Fundação Cargill, 1982. 30p.
- DELOUCHE, J.C. & BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Sci. Technol.*, 1(2):427-52, 1973.

- EGLI, D.B. & TEKRONY, D.M. Relationship between soybean seed vigor and yield. *Agron. J.*, **71**(5):755-9, 1979.
- FRANÇA NETO, J.B.; PEREIRA, L.A.G.; COSTA, N.P. da. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja** (versão preliminar). Londrina, EMBRAPA-CNPSO, 1986. 35p. Mimeografado.
- FRANCO, D.F.; PETRINI, J.A.; AMARAL, A.S. **Novo teste de viabilidade em sementes de soja**; teste de timerosal. Pelotas, EMBRAPA-UEPAE de Pelotas, 1984. 3p. (Pesquisa em Andamento, 10).
- GRABE, D.F. **Manual do teste de tetrazólio em sementes**. Brasília, AGIPLAN, 1976. 85p.
- JOHNSON, R.R. & WAX, L.M. Relationship of soybean germination and vigor tests to field performance. *Agron. J.*, **70**(2):273-8, 1978.
- KOLLMORGEN CORPORATION. **Munsell Book of color**. Baltimore, Neighboring Hues, 1976. 48p.
- MACKAY, D.B. The measurement of viability. In: ROBERTS, E.H., ed. **Viability of seeds**. Syracuse, Syracuse University Press, 1972. p.172-208.
- MARCOS FILHO, J.; PESCARIN, H.M.C.; KOMATSU, Y.H.; DEMÉTRIO, C.G.B.; FANCELLI, A.L. Testes para avaliação do vigor de sementes de soja e suas relações com a emergência das plântulas em campo. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, **19**(5):605-13, 1984.
- MCDONALD JUNIOR, M.B. A review and evaluation of seed vigor tests. *Proc. Assoc. Off. Seed. Anal.*, **65**:109-39, 1975.
- MCDONALD JUNIOR, M.B. & WILSON, D.O. ASA-610 ability to detect changes in soybean seed quality. *J. Seed Technol.*, **5**(1):56-66, 1980.
- MOORE, R.P. Tetrazolium staining for assessing seed quality. In: HEYDECKER, W., ed. **Seed ecology**. Nottingham, The Pennsylvania State University Press, 1972. p.347-66.
- MOTTA, C.A.P. **Comparação de testes de vigor em sementes de soja com a emergência das plântulas a campo**. Pelotas, UFPEL, 1986. 90p. Tese Mestrado.
- PASHA, M.K. & DAS, R.K. Quick viability test of soybean seeds by using tetrazolium chloride. *Seed Sci. Technol.*, **10**(3):651-5, 1982.
- PEREIRA, L.A.G. **Comparisons of selected vigor tests for evaluating soybean seed quality**. Mississippi, Mississippi State University. Tese Mestrado. 1974. 74p.
- PERRY, D.A. **Handbook of vigour test methods**. Zurich, International Seed Testing Association, 1981. 72p.
- PESKE, S.T. & AMARAL, A.S. Prediction of the germination of soybean seeds by measurement of the pH of seed exudates. *Seed Sci. Technol.*, **14**(1):151-6, 1986.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília, s.ed., 1985. 289p.
- SCHOETLLE, A.W. & LEOPOLD, A.C. Solute leakage from artificially aged soybean seeds after imbibition. *Crop Sci.*, **24**(5):835-8, 1984.
- TEKRONY, D.M. & EGLI, D.B. Relationship between laboratory indices of soybean seed vigor and field emergence. *Crop Sci.*, **17**(4):543-7, 1977.
- WOODSTOCK, L.W. Physiological and biochemical tests for seed vigor. *Seed Sci. Technol.*, **1**(1):127-57, 1973.
- YAKLICH, R.W. & KULIK, M.M. Evaluation of vigor tests in soybean seeds; relationship of the standard germination test, seedling vigor classification, seedling length, and tetrazolium staining to field performance. *Crop Sci.*, **19**(2):247-52, 1979.
- YAKLICH, R.W.; KULIK, M.M.; ANDERSON, J.D. Evaluation of vigor tests in soybean seeds; relationship of ATP, conductivity, and radioactive tracer multiple criteria laboratory tests to field performance. *Crop Sci.*, **19**(6):806-10, 1979.