

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA E PRESENÇA DE
PATÓGENOS EM SEMENTES DE SOJA**

**Adriana Luiza Wain Tassi
Engenheira Agrônoma**

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Maio de 2007

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA E PRESENÇA DE
PATÓGENOS EM SEMENTES DE SOJA**

Adriana Luiza Wain Tassi

Orientador: Prof. Dr. Roberval Daiton Vieira

Co-Orientadora: Profa. Dra. Rita de Cássia Panizzi

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Produção e Tecnologia de Sementes.

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Maio de 2007

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

ADRIANA LUIZA WAIN TASSI – nascida aos 23 de setembro de 1972, em Assis, SP, é Engenheira Agrônoma, formada pela Escola Superior de Agronomia de Paraguaçu Paulista - ESAPP, em 16 de dezembro de 1994. Iniciou o mestrado em março de 2005.

“Confia no Senhor de todo o teu coração e não te apóies
na tua própria sabedoria!

Pensa nele em todos os teus caminhos,
e ele conduzirá teus passos. “

(Pr 3, 5-6).

OFEREÇO

A minha mãe, **Isaura**, pelo amor, incentivo e apoio. Nome que vou pronunciar com
santo orgulho até o fim... Te amo!!!

DEDICO

Ao meu esposo, **Rones**, por ser ouvido e voz de Deus na hora certa. Pelo amor e
compreensão nesta fase profissional da minha vida.

Amo você!!!

AGRADECIMENTOS

À **DEUS**, acima de tudo e de todos, pela saúde, pela sua misericórdia, pelo seu amor... Te Amo!!!

Ao Professor Dr. Roberval Daiton Vieira, pela oportunidade, atenção, orientação e pelos seus conselhos de pai.

À Professora Dra. Rita de Cássia Panizzi, pela acolhida, sugestão do trabalho e orientação.

À Professora Dra. Mara Cristina Pessoa da Cruz pela atenção e disposição na execução das análises químicas.

Ao Dr. Francisco Carlos Krzyzanowski, pela direção, pelo estímulo, apoio e amizade.

Aos Professores que compõe a banca examinadora, pela valiosa contribuição.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida, possibilitando-me a realização do mestrado.

À Cooperativa dos Agricultores da Região de Orlândia Ltda. – CAROL, pela contribuição na melhoria da tecnologia, fornecendo as sementes para o desenvolvimento do trabalho.

Aos Professores Doutores Nelson Moreira de Carvalho, Rouverson Pereira da Silva, Domingos Fornasieri Filho, Terezinha de Jesus Deleo Rodrigues, Rubens Sader, Margarete Camargo, do curso de Pós-Graduação, pela disponibilidade em ensinar, pelo auxílio e atenção em especial.

Ao Professor Dr. David A. Banzatto pela atenção, apoio e disposição.

Aos funcionários, Lázaro José Ribeiro da Silva e Rubens Libório, do Laboratório de Sementes do Departamento de Produção Vegetal pelo auxílio, amizade e dedicação.

Às funcionárias Lúcia Rita Ramos e Rosangela Teodoro dos Santos, do Laboratório de Patologia de Sementes do Departamento de Fitossanidade, pelo auxílio, amizade e dedicação.

Às secretárias Mônica Roberta Ignácio, Marta Helena Villanova e Marisa Coga, pela atenção e carinho.

A todos os colegas de curso em especial a Magnólia, pela atenção e carinho.

Aos amigos Francisco (Kim), Cleide, Edna, Alaíde, Edileusa, Telma e Cristiana, anjos que fazem minha alma cantar, obrigada pela amizade, carinho e acolhida.

A todos que colaboraram de forma direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
I. INTRODUÇÃO.....	01
II. REVISÃO DE LITERATURA.....	02
III. MATERIAL E MÉTODOS.....	08
3.1. Obtenção, multiplicação e crescimento do fungo.....	08
3.2. Inoculação das sementes.....	09
3.3. Teor de água das sementes.....	10
3.4. Teste de germinação.....	10
3.5. Vigor - Índice de velocidade de emergência (IVE).....	10
3.6. Vigor - Teste de condutividade elétrica (CE).....	10
3.7. Vigor - Teste de envelhecimento acelerado (EA).....	11
3.8. Vigor - Teste de frio (TF).....	11
3.9. Emergência de plântulas em campo (EP).....	11
3.10. Sanidade das sementes.....	12
3.11. Composição química da solução de embebição.....	12
3.12. Composição química da semente.....	12
3.13. Análise estatística.....	12
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
4.1. Teor de água das sementes.....	14
4.2. Crescimento micelial do fungo em meio de cultura.....	16
4.3. Qualidade sanitária dos lotes de sementes.....	16
4.4. Potencial fisiológico das sementes.....	19
4.4.1 Desempenho germinativo.....	19
4.4.2. Vigor das Sementes.....	21
4.5. Composição química da solução de embebição.....	25
4.6. Composição química da semente.....	27

V. CONCLUSÃO.....	31
VI. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	32

TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA E PRESENÇA DE PATÓGENOS EM SEMENTES DE SOJA

RESUMO – O uso de procedimentos adequados para avaliar o vigor de semente é fundamental dentro do programa de controle de qualidade. No caso do teste de condutividade elétrica (CE) tem-se constatado efeito do patógeno sobre os resultados do mesmo. Assim, o trabalho teve como objetivo estudar a interferência dos fungos *Phomopsis sojae* e *Colletotrichum dematium* var. *truncata* nos resultados do teste em semente de soja. O trabalho foi conduzido usando-se sementes produzidas na safra 2005/2006. Estas foram inoculadas artificialmente com os fungos *P. sojae* e *C. dematium* var. *truncata*, utilizando-se meio de cultura BDA (batata, ágar e dextrose) acrescido de manitol (-1,0 MPa), por período de incubação de 20 horas, à temperatura de 25° C. Determinou-se o diâmetro de colônias, o índice de crescimento micelial; o teor de água da semente; a incidência de microorganismos (antes e após a inoculação) pelo teste de sanidade; o potencial fisiológico da semente pelos testes de germinação e de vigor (índice de velocidade de emergência, de frio, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica) e a emergência de plântulas em campo. Determinou-se também a composição química da solução de embebição – lixiviados (K^+ , Ca^{+} , Mg^{+} e Na^{+}) e das sementes (K^+ , Ca^{+} , Mg^{+} , Na^{+} , P, C e N). Para análise estatística utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4, (duas peneiras - 5,5 e 6,5 x quatro tratamentos - semente pura, semente em meio de cultura sem o fungo (-1,0 MPa), semente inoculada com o fungo *P. sojae* (-1,0 Mpa) e semente inoculada com o fungo *C. dematium* var. *truncata* (-1,0 MPa), para as peneiras 5,5 e 6,5 mm, com oito e seis repetições respectivamente. Para o crescimento de colônias dos fungos as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5% de probabilidade). A inoculação de *P. sojae* nas sementes resultou em redução da qualidade fisiológica, porém, o mesmo

não se verificou com a inoculação de *C. dematium* var. *truncata*. Não se verificou efeito do tamanho de semente nos resultados em função a inoculação. Com base nos resultados concluiu-se que a presença do fungo *Phomopsis sojae* pode interferir nos resultados do teste de condutividade elétrica, o mesmo não ocorreu com o fungo *Colletotrichum dematium* var. *truncata*.

Sugerem-se novos estudos para verificar a possibilidade do fungo *Phomopsis* consumir potássio rapidamente da semente, alterando os resultados nos testes de vigor.

Palavras-Chave: *Glycine max*, qualidades fisiológica e sanitária, vigor, *Phomopsis sojae*, *Colletotrichum dematium* var. *truncata*.

ELECTRICAL CONDUCTIVITY TEST AND OCURENCE OF SOYBEAN SEEDBORN PATHOGENS.

ABSTRACT – The use of adequate procedures to evaluate seed vigor is a very important tool within an assurance program of seed quality. Regarding the electrical conductivity test (EC) it has been verified the effect of some seedborn pathogens on the EC results. This research work was carried out in order to study the influence of the presence of *Phomopsis sojae* and *Colletotrichum dematium* var. *truncata* fungi on the EC results. The work was running using seeds produced in the agricultural year 2005/2006. The seeds were inoculated artificially with the fungi using the BDA (potato, agar and dextrose) medium with manitol (-1.0 MPa), incubated during 20 hours at temperature of 25° C. The colony diameter, index of micelial growth; seed water content; occurrence of seedborn pathogens (before and after incubation); physiological potential of seeds using germination and vigor (speed germination index, cold test, accelerated aging and electrical conductivity) tests and seedling emergence in field were determined. Also, the composition of the soaked seed solution – leachates (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+) and the seed (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , P, C and N) were determined. A completely design in factorial 2 x 4 (two seed size – 5.5 and 6.5 mm x four seed treatments – purity seeds, seeds incubated in BDA without fungi, seeds incubated in BDA with *Phomopsis* and seeds incubated in BDA with *Colletotrichum*) arrangement, with eigh (5.5 mm) and six (6.5 mm) replications was used. The infection of soybean seeds with *Phomopsis* resulted on physiological seed quality reduction, but it did not

happen when the seeds were inoculated with *Colletotrichum*. There is no effect of seed inoculation in function of seed size. Based on the results it can be concluded that the occurrence of *Phomopsis sojae* fungi can interfere on the electrical conductivity results, but the same did not happen for the *Colletotrichum dematium* var. *truncata* fungi.

Keywords: *Glycine Max*, physiological seed quality, seed vigor, seedborn pathogens, *Phomopsis sojae*, *Colletotrichum dematium* var. *truncata*.

I. INTRODUÇÃO

A cultura da soja é uma das mais importantes no Brasil, em função de seu grande valor sócio-econômico, determinado pelas inúmeras aplicações de seus produtos e subprodutos e conseqüentemente alta expressão nos mercados interno e externo. No contexto mundial, a produção de soja no Brasil ocupa a segunda colocação, sendo superada apenas pelos Estados Unidos, em termos de área cultivada e de produção total.

A busca por produto de alta qualidade, particularmente semente, requer investimentos no aprimoramento em procedimentos laboratoriais, visando resultados que expressem o melhor desempenho das sementes, quando semeadas em campo. Os testes de vigor têm sido instrumentos de uso cada vez mais rotineiro pelas empresas de sementes para determinação do potencial fisiológico, paralelamente ao teste de germinação.

Apesar do teste de condutividade elétrica ter sido considerado eficiente indicador da emergência de plântulas no campo, particularmente para sementes de ervilha e soja, o mesmo continua passando por refinamentos na metodologia, para melhorar a eficiência na avaliação do vigor. Vários fatores podem interferir sobre os resultados do teste, requerendo-se, portanto, contínuos estudos. Dentre esses fatores, a presença de patógenos na semente, especialmente fungos tem sido motivo de preocupação.

O efeito da presença do fungo na semente, ainda não ficou bem esclarecido, quanto à possibilidade de causar variação nos resultados obtidos. Assim, o trabalho teve o objetivo de estudar a interferência dos fungos *Phomopsis sojae* e *Colletotrichum dematium* var. *truncata* nos resultados do teste de condutividade elétrica em sementes de soja.

II. REVISÃO DE LITERATURA

A cultura da soja no Brasil recebe grande atenção da pesquisa, principalmente visando a obtenção de informações que possibilitem aumentos de produtividade. Para conseguir maiores rendimentos por área, é indispensável, dentre as técnicas adequadas de cultivo, a utilização de sementes de alta qualidade, expressa pelos componentes genético, físico, fisiológico e sanitário (BRACCINI et al., 2003).

Testes utilizados para a avaliação do vigor de sementes têm o objetivo básico de identificar diferenças no potencial fisiológico entre lotes que apresentem poder germinativo semelhante (VIEIRA et al., 1994; KRZYZANOWSKI & FRANÇA NETO, 2001), pois, observa-se que lotes de sementes apresentando germinação semelhante, freqüentemente, exibem comportamentos distintos no armazenamento e no campo (MARCOS FILHO et al., 1987). Espera-se, na avaliação do vigor, relação estreita com o desempenho das sementes em campo em ampla faixa de condições ambientais. Para avaliar o vigor de sementes de soja entre outros testes pode-se utilizar o teste de condutividade elétrica.

O teste de condutividade elétrica preenche requisitos básicos, necessários a um teste de vigor, dentre os quais se destacam: fundamentar-se em base teórica consistente, proporcionar resultados reproduzíveis e correlacionados com a emergência de plântulas em campo, além de envolver procedimento simples, de baixo custo e fornecer resultados com rapidez (MATTHEWS & POWELL, 1981).

A condutividade elétrica tem sido relatada como um teste bioquímico para avaliar o vigor (HAMPTON & TEKRONY, 1995), entretanto, pode-se considerar que o mesmo encerra basicamente dois princípios: um físico, relacionado à avaliação da corrente elétrica, por meio de uma ponte de condutividade na solução de embebição, e um biológico, que se refere à perda de lixiviados do interior da célula para o meio exterior,

envolvendo processos bioquímicos relacionados à integridade das membranas celulares (VIEIRA, 1994 e VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

Esse teste baseia-se no princípio de que o vigor está relacionado ao processo de deterioração, conseqüentemente, à integridade do sistema de membranas celulares. Desse modo, quando as sementes são imersas em água durante o processo de embebição, ocorre a liberação de lixiviados do interior para o meio líquido, em intensidade proporcional ao estado de desorganização em que se encontram as membranas celulares das sementes (WOODSTOCK, 1973; MARCOS FILHO et al., 1987; VIEIRA, 1994).

A relação entre o teor de água, o nível de organização das membranas celulares das sementes e a quantidade de lixiviados na solução de embebição é a base teórica que permite relacionar a condutividade elétrica com o vigor de sementes, em que altos valores de condutividade elétrica (alta perda de eletrólitos) indicam baixo vigor, e baixos valores (baixa perda de eletrólitos), alta qualidade fisiológica das sementes, logo, alto vigor (HAMPTON & TEKRONY, 1995; VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999). Assim, o teste de condutividade elétrica tem sido indicado como procedimento para avaliar o vigor de sementes de soja (MARCOS FILHO et al., 1990; HAMPTON & TEKRONY, 1995; VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999; AOSA, 2002; VIEIRA et al., 1999, 2004).

Vários fatores podem afetar os resultados do teste de condutividade elétrica. Dentre esses, podem ser destacados o tamanho da semente, a presença de sementes danificadas (TAO, 1978), a temperatura e o período de embebição (LOEFFLER et al., 1988), o teor de água inicial da semente (TAO, 1978; LOEFFLER et al., 1988; VIEIRA et al., 2002), o volume, a quantidade de água e o tamanho do recipiente de embebição (TAO, 1978), o genótipo (BRACCINI et al., 1994; PANOBIANCO & VIEIRA, 1996; VIEIRA et al., 1996), a redução da duração do teste (MARCOS-FILHO et al., 1990), a temperatura de armazenamento (FERGUSON, 1988; VIEIRA, et al., 2001), o efeito da adubação fosfatada e potássica (NAKAGAWA, et al., 2001), o efeito da aplicação de manganês (MANN, et al., 2002), a morfologia da testa e o potencial fisiológico da sementes de soja (SILVA, 2003). A emergência de plântulas tanto no campo como em

laboratório, quando comparada com o teste de condutividade, tem mostrado alta associação (VIEIRA et al., 1999; HAMMAN, et al., 2001; COLETE et al., 2004).

Vários trabalhos têm mostrado que podem ser lixiviados das sementes compostos orgânicos, tais como: açúcares, enzimas, nucleotídeos, ácidos graxos, ácidos orgânicos, aminoácidos, proteínas, e compostos inorgânicos, tais como os íons K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Mn^{++} , Na^+ e Cl^- (MATTEWS & BRADNOCK, 1968; CHING & SCHOOLCRAFT, 1968; ABDU-BAKI & ANDERSON, 1970; ABDEL SAMAD & PEARCE, 1978; LOOMIS & SMITH, 1980; LOTT et al., 1991; DIAS et al., 1998; CUSTÓDIO & MARCOS FILHO, 1997). Vários autores (CUSTÓDIO & MARCOS FILHO, 1997; DIAS et al., 1998, BARROS et al., 1999a; VANZOLINI & NAKAGAWA, 2003) têm, também, sugerido a determinação da quantidade de potássio lixiviada como procedimento para avaliar o vigor de sementes.

As sementes são estruturas capazes de sobreviver e manter a viabilidade até que o clima e o local sejam favoráveis para o início de uma nova geração. No entanto, como qualquer outro ser vivo, não conseguem preservar suas funções vitais indefinidamente. Porém, a deterioração determina o desequilíbrio funcional de tecidos ativos de todos os organismos vivos, provocando a inativação progressiva do metabolismo e culminando com a morte, onde, a taxa de deterioração da semente depende diretamente da temperatura, da umidade relativa do ar e do histórico da população de sementes, fatores que afetam suas características físicas, químicas, fisiológicas e sanidade (MARCOS FILHO, 2005). No entanto, as sementes vão perdendo a capacidade de produzir plântulas normais, ou seja, raízes e partes aéreas bem desenvolvidas, quando em processo de germinação e emergência (KRZYZANOWSKI & FRANÇA NETO, 2001).

A deterioração é um processo determinado por uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas, citológicas e sanitárias, com início a partir da maturidade fisiológica, em ritmo progressivo, determinando a queda da qualidade (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000; KRZYZANOWSKI & FRANÇA NETO, 2001; MARCOS FILHO, 2005). Assim, a adequada avaliação da qualidade só é possível por

meio da atuação conjunta das áreas de tecnologia e patologia de sementes (FRANÇA NETO & HENNING, 1992)

As sementes são importantes veículos de agentes fitopatogênicos, que podem ser levados ao campo e provocarem redução na germinação e vigor, originando focos primários de doença. A maioria das doenças de importância econômica que ocorre na cultura da soja é causada por patógenos que são transmitidos pelas sementes, dentre eles merecem destaque: *Phomopsis* sp. (causador do cancro da haste da soja, seca da haste e da vagem da soja e da deterioração de sementes) e *Colletotrichum dematium* var. *truncata* (causador da antracnose) (DINGRA & ACUNÃ, 1997; GOULART, 1997).

Os organismos mais importantes que infectam as sementes de soja são os fungos, responsáveis não só pela disseminação do patógeno, mas pelo apodrecimento das sementes no solo, deterioração durante o armazenamento e produção de micotoxinas (DHINGRA & ACUNÃ, 1997). A ocorrência de condições climáticas desfavoráveis para a cultura da soja, como chuvas e altas temperaturas durante as fases de maturação e colheita, afetam, além da qualidade fisiológica, a sanidade das sementes, pois podem propiciar aumento da infecção de sementes por fungos, como *Phomopsis* spp. e *Fusarium* spp. e, em consequência, reduzir a germinação (FRANÇA NETO & HENNING, 1984). Dependendo das condições climáticas, sementes aparentemente sadias, podem estar altamente infectadas por tais fungos (FRANÇA NETO & HENNING, 1992).

A antracnose, causada por *C. dematium* var. *truncata*, é responsável por sérios prejuízos às lavouras de soja (HENNING, 1994), podendo causar deterioração da semente e morte de plântulas (TIFFANY, 1951) e infecção sistêmica em plantas adultas (NEERGARD, 1979). Estudos com feijão em casa de vegetação, permitiram concluir que a taxa de transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* da semente para a plântula, varia de 70 a 100%, com incidência de 1 a 5% dos patógenos (VECHIATO et al., 1997). As sementes infectadas, quando semeadas, se não apodrecem antes da emergência, produzem plântulas com cotilédones necrosados, onde o fungo esporula abundantemente, fornecendo inóculo secundário. No Brasil, a antracnose pode ser considerada uma doença da soja potencialmente perigosa, principalmente em regiões

úmidas, de temperaturas amenas e com solos deficientes em cálcio (DHINGRA & ACUÑA, 1997).

A infecção das sementes por *C. dematium* var. *truncata* e *Phomopsis* sp. geralmente acontecem através da parede da vagem. Apesar da infecção nas vagens ocorrer quando elas ainda encontram-se verdes, a infecção das sementes geralmente ocorre após o início da maturação da vagem. Acreditava-se que a infecção das sementes ocorresse através de rachaduras do tegumento e da micrópila, porque a maioria dos fungos localizava-se no tegumento, embora *Phomopsis* spp. fossem encontradas no endosperma (SCHNEIDER et al., 1974, ILYAS et al., 1975). Entretanto, estudos histopatológicos têm demonstrado que os conídios de *Phomopsis longicolla* germinam e estabelecem-se dentro de 24 horas após a sua chegada à superfície da vagem, ressaltando-se que, após 24 a 48 horas, ocorre a penetração nas vagens. As colonizações das sementes acontecem após a colonização da vagem (DHINGRA & ACUNÁ, 1997).

Os prejuízos causados por esses fungos à cultura da soja, têm exigido estudos mais pormenorizados das relações entre patógenos e hospedeiros. No entanto, pela dificuldade de obterem-se sementes com determinados níveis de infecção por esses patógenos, torna-se necessário a inoculação artificial desses em sementes. A técnica de restrição hídrica do substrato, tem sido empregada como alternativa de inoculação, pois permite prolongar o período de permanência das sementes em contato com o patógeno, favorecendo assim maiores porcentagem de infecção, sem que as mesmas germinem. Assim, possibilitam que as sementes após a inoculação, tenham o seu período de utilização prolongado. Essa técnica consiste em colocar as sementes sobre a colônia fúngica desenvolvida em substrato (meio de cultura) modificado com a adição de solutos, obtendo-se assim a restrição hídrica de substrato, sem inibir o crescimento do fungo (CARVALHO, 1999; MACHADO et al., 2001).

A restrição hídrica, até o nível de -1,0 MPa determinada pelo uso de manitol em meio BDA, permite a infecção de maior número de sementes de soja pelos fungos *C. um truncatum*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *P. sojae* (MACHADO et al. 2001). Também, o uso da restrição hídrica em meio BDA com manitol foi eficaz na inoculação de *C.*

lindemuthianum em sementes de feijão, com período maior de exposição das sementes ao inóculo, havendo também, estímulo ao crescimento radial das colônias fúngicas com restrição hídrica de até -0,8 MPa (CARVALHO, 1999).

Contudo, estudos são necessários para verificar se existe interferência na leitura da condutividade elétrica, quando as sementes de soja de uma mesma cultivar estão infectadas por diferentes patógenos, pois cada cultivar apresenta diferença quanto a resistência e suscetibilidade a patógenos.

III. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido nos Laboratórios de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal e de Patologia de Sementes do Departamento de Fitossanidade e de Fertilidade do Solo do Departamento de Solos e Adubos, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP.

Para a realização do estudo foram utilizadas sementes de soja, cultivar Embrapa 48, peneiras 5,5 e 6,5mm (92 e 95% de germinação, respectivamente), fornecida pela Cooperativa dos Agricultores da Região de Orlândia Ltda. – CAROL.

3.1. Obtenção, multiplicação e crescimento dos fungos - Os fungos utilizados para o estudo foram *Phomopsis sojae* e *Colletotrichum dematium* var. *truncata*, isolados de sementes de soja, multiplicados em meio de cultura BDA (extrato de 200g de batata, 18g de ágar, 20g de dextrose e 1000mL de água destilada) e conservados em tubo de ensaio contendo suas colônias sobre o meio de cultura, cobertas por óleo mineral estéril. Os fungos foram repicados para placas de Petri contendo meio de cultura BDA e meio de cultura BDA acrescido o soluto manitol, potencial hídrico de -1,0 MPa. As concentrações dos solutos para o preparo dos meios foram obtidas pela fórmula de Van't Hoff (SALISBURY & ROSS, 1991):

Po = -CIRT, onde:

Po = Potencial osmótico (MPa);

C = Concentração (moles/kg de água);

I = Constante de Ionização;

R = Constante geral de gases ($0,00831 \text{ x Kg x MPa x mol}^{-1} \text{ x K}^{-1}$);

T = Temperatura absoluta ($T^{\circ}\text{C} + 273$).

Um disco de 0,4 cm de diâmetro foi repicado da colônia pura de cada fungo e transferido para cada placa de Petri, as quais foram distribuídas ao acaso em câmara com temperatura de 25 °C, por 24 dias. A avaliação preliminar foi realizada, comparando o desenvolvimento do fungo nos dois meios de cultura com e sem restrição hídrica (0,0 e -1,0 MPa), sendo utilizadas 10 placas para cada fungo em cada concentração. As avaliações foram realizadas diariamente, medindo-se no verso de cada placa, o crescimento micelial de cada fungo, até que algum tratamento atinja toda a placa. Foram determinados o diâmetro de colônia e o índice de crescimento micelial (ICM), seguindo-se a fórmula proposta por Oliveira, conforme relatado por MACHADO et al. (2001):

$$\text{ICM} = \frac{C_1 + C_2 + \dots + C_n}{N_1 + N_2 + \dots + N_n}, \text{ onde:}$$

ICM = índice de crescimento micelial;

C₁, C₂, C_n = crescimento micelial das colônias na primeira, segunda e última avaliação;

N₁, N₂, N_n = número de dias.

3.2. Inoculação das sementes com os fungos - Foram selecionadas visualmente, sementes sem trincas e posteriormente desinfestadas com hipoclorito de sódio + água destilada (1:1), por 30 segundos, enxaguadas com água destilada autoclavada, secas à temperatura ambiente, sobre folhas de papel de filtro esterilizadas. Em seguida essas sementes foram distribuídas sobre colônias de cada fungo, desenvolvidas em placa de Petri com meio de cultura BDA (-1,0 MPa), em camada única e levemente prensadas sobre o meio, permanecendo assim 20 horas. Após esse período as sementes foram retiradas e mantidas em câmara de secagem com fluxo de ar forçado, à temperatura inicial de 25 °C, aumentada para 27 °C, posteriormente 29 °C atingindo a máxima de 32 °C, até as sementes retornarem ao peso inicial. Em seguida, foram mantidas por sete dias em câmara fria, para os tratamentos - semente testemunha (sementes puras), semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0 MPa) sem o fungo, sementes inoculadas com o fungo *Phomopsis sojae* (-1,0 MPa) e inoculadas com o fungo *Colletotrichum. dermatium* var. *truncata* (-1,0 MPa) - atingirem o equilíbrio higroscópico,

para as peneiras 5,5 e 6,5mm. Posteriormente, realizaram-se em laboratório e em campo as seguintes determinações.

3.3. Teor de água (TA) - Foram utilizadas duas amostras de 20 sementes por tratamento, pesadas em balança com precisão de duas casas decimais e levadas à estufa à temperatura de 105 ± 3 °C por 24 horas (ISTA, 1996). O TA das sementes foi determinado antes e após o envelhecimento acelerado dos mesmos.

3.4. Germinação - Foi determinada usando-se oito subamostras de 50 sementes para peneira 5,5 e seis subamostras para peneira 6,5, colocadas para germinar em caixa plástica com areia à temperatura ambiente (25 a 30 °C). As avaliações foram realizadas aos oito dias após a semeadura, computando-se a percentagem de plântulas normais (BRASIL, 1992; ISTA, 1996).

3.5. Vigor - Índice de velocidade de emergência (IVE) - Foi realizado juntamente com o teste de germinação em areia. As plântulas emergidas foram diariamente contadas até a estabilização do seu número (NAKAGAWA, 1999). Ao final do teste, com os dados diários do número de plântulas, foi calculado o índice de velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962) pela fórmula:

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n}, \text{ onde:}$$

IVG = índice de velocidade de emergência

G_1 , G_2 , G_n = números de plântulas normais contados na 1ª, 2ª e última contagem, respectivamente;

N_1 , N_2 , N_n = números de dias da semeadura à 1ª, 2ª e última contagem respectivamente.

3.6. Vigor - Condutividade elétrica (CE) - Foram utilizadas oito subamostras de 50 sementes para peneira 5,5 e seis subamostras para 6,5, pesadas com precisão de duas casas decimais. A seguir, foram colocadas para embeber em recipiente contendo 75mL

de água desionizada e, mantidas à temperatura de 25 °C, durante 24 horas. Ao final desse período, foram efetuadas leituras de condutividade na solução da água de embebição, usando-se condutivímetro DIGIMED, modelo, CD 21, com eletrodo constante 1,0. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sementes (HAMPTON & TEKRONY, 1995; VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

3.7. Vigor - Envelhecimento acelerado (EA) - Foi realizado com oito subamostras de 50 sementes para peneira 5,5 e seis subamostras para 6,5, obtidas de amostras de 42 g de sementes, distribuídas sobre tela de alumínio em camada única, no interior de caixas plásticas de germinação (11,0 x 11,0 x 3,5 cm). Em cada caixa foram adicionados 40mL de água destilada, e essas foram mantidas à temperatura de 41 °C, durante 48 horas, (MARCOS FILHO, 1999). Após o período de envelhecimento, as sementes foram submetidas ao teste de germinação (ISTA, 1996).

3.8. Vigor - Teste de frio - Foi adotado o método da caixa plástica com terra, utilizando-se como substrato mistura de 2/3 de areia e 1/3 de terra obtida de área cultivada com soja. Foram usadas oito subamostras de 50 sementes para peneira 5,5 e seis subamostras para 6,5. O substrato foi colocado em caixas plásticas (26 cm x 16 cm x 8,5 cm), e as sementes cobertas com camada de aproximadamente três centímetros do mesmo substrato e umedecidas até 70% da capacidade de retenção de água do mesmo. As caixas foram tampadas e acondicionadas em câmara fria, à temperatura de 10 °C, por sete dias. Após esse período, foram retiradas e mantidas à temperatura ambiente (25 a 30 °C) por cinco dias, quando foi feita a contagem do número de plântulas normais (BARROS et al., 1999b).

3.9. Emergência de plântula em campo (EP) - Foi conduzida na área experimental do Câmpus, com oito subamostras de 50 sementes para peneira 5,5 e seis subamostras para 6,5, distribuídas manualmente em sulcos de 1,5 m de comprimento e espaçados em 0,25 m, à profundidade de 2-3 cm (NAKAGAWA, 1999).

3.10. Sanidade das sementes - Foram utilizadas 200 sementes de soja com desinfestação superficial utilizando hipoclorito de sódio + água destilada (1:3), por 3 minutos, e, 200 sementes sem desinfestação prévia, para cada tratamento, seguindo o método do papel de filtro (LIMONARD, 1966). As sementes foram colocadas eqüidistantes em placas de Petri (10 sementes/placa), sobre três folhas de papel de filtro embebidas com água destilada e, mantidas em câmara de incubação por sete dias à temperatura de 20 ± 2 °C e luz branca alternada (12h luz/ 12h escuro). Após esse período, foi avaliada a incidência de fungos nas sementes, examinando-as com auxílio de microscópio estereoscópico.

3.11. Composição química da solução de embebição - Após a leitura da condutividade elétrica, as sementes juntamente com a solução foram vertidas em recipiente, com auxílio de um funil, utilizando papel de filtro “Whatman”, número 1. Os recipientes foram fechados e retornados à temperatura de 25 °C. Determinaram-se os teores de potássio, pelo método de fotometria de chama, e, de cálcio, magnésio e sódio pelo método de espectrometria de absorção atômica (BATAGLIA et al., 1983). Os valores foram expressos em mg do íon por Kg de sementes.

3.12. Composição química da semente - Foram utilizadas oito e seis repetições de 200 sementes para as peneiras 5,5 e 6,5 respectivamente. Em seguida as sementes foram mantidas em estufa à temperatura de 60 °C por 12 horas e posteriormente, moídas em micromoinho industrial, feita a digestão e analisadas como descrito acima para a composição química da solução de embebição (BATAGLIA et al., 1983).

3.13. Análise estatística - Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4 (duas peneiras - 5,5 e 6,5 x quatro tratamentos - sementes puras, sementes em meio de cultura BDA (-1,0 MPa) sem o fungo, sementes inoculadas com o fungo *P. sojae* (-1,0 MPa) e sementes inoculadas com o fungo *C. dermatium* var. *truncata* (-1,0 MPa)), com oito e seis repetições respectivamente, para as peneiras 5,5 e 6,5mm. Para o crescimento de colônias dos fungos, utilizou-se

delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para cada fungo (BANZATTO & KRONKA, 2006).

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Teor de água das sementes

As sementes, com exceção da testemunha, passaram por processo de inoculação por período de 20 horas, onde, o teor de água (Tabela 1) da semente atingiu o máximo 24,6 pontos percentuais para a peneira 5,5mm e 22,1 pontos percentuais para a peneira 6,5mm.

Tabela 1. Teor de água de sementes de soja, cultivar Embrapa 48, antes e após o envelhecimento acelerado, em função das peneiras e dos tratamentos envolvendo ou não a inoculação com os patógenos.

Peneiras	ST ¹	STB ²	SIP ³	SIC ⁴
----- % -----				
Teor de água após a inoculação				
5,5	9,2	28,0	33,8	23,1
6,5	8,9	28,0	31,0	21,7
Teor de água após a secagem				
5,5	9,2	9,3	9,1	9,0
6,5	8,9	8,8	8,8	8,5
Teor de água após envelhecimento acelerado				
5,5	27,0	27,7	29,5	28,0
6,5	27,5	27,8	27,9	28,0

¹Semente testemunha (ST); ²Semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0 MPa) (STB); ³Sementes inoculadas com *Phomopsis sojae* (-1,0 MPa) (SIP); ⁴Sementes inoculadas com *Colletotrichum dematium* var. *truncata* (-1,0 MPa) (SIC).

O teor de água das sementes, após a secagem, apresentou intervalo de variação de 0,8 ponto percentual (Tabela 1), logo variação dentro de padrão aceito, 1-4 pontos percentuais (MARCOS FILHO, 1999). No caso do teor de água, esse aspecto deve ser ressaltado, pois quando variações muito grandes são verificadas, pode haver interferência nos resultados dos testes tanto de envelhecimento acelerado, por haver variação acentuada na velocidade de umedecimento (diferentes intensidades de deterioração) durante o teste (MARCOS FILHO, 1999), assim como para o teste de condutividade elétrica, conforme observado por vários autores (TAO, 1978; LOEFFLER et al., 1988; HAMPTON et al., 1992; VIEIRA et al., 2002).

No entanto, um dos indicadores da uniformidade das condições do envelhecimento acelerado é o teor de água das sementes antes e também após o teste, pois as mais úmidas são mais sensíveis às condições do teste e, portanto, sujeitas a deterioração mais intensa. Ao final do envelhecimento acelerado, essa mesma variação é tolerada, indicando uniformidade no teste. Atualmente, a recomendação enfatizava variação inferior a 2 pontos percentuais no teor de água na instalação, e após o teste submetido ao envelhecimento acelerado, porém, se excederem esses limites são considerados excessivos e determinam a necessidade de repetição do teste (MARCOS FILHO, 2005).

Nessas mesmas condições de condução do teste de envelhecimento acelerado (41 °C/48h), VANZOLINI & CARVALHO (2002) observaram para sementes de soja teores de água entre 27,2 e 29,9%. Segundo COLETE et al. (2004), também para soja cultivar “Embrapa 48”, o teor de água inicial de 10,9 - 11,5% atingiu 27,2 e 28,4% e para a cultivar “BRS 133” com teor de água inicial de 9,8 - 11,3% atingiu teores entre 23,1 - 27,1%. No entanto essas diferenças estão dentro dos padrões de variação aceitos (27 - 29,5%), conforme constatado na literatura (MARCOS FILHO, 1999).

Além disso, para a condução do teste de envelhecimento acelerado, a recomendação do teor de água inicial das sementes é de 11 a 13%, devido a resposta do teste depender da interação temperatura, período de exposição, teor de água e qualidade das sementes (MARCOS FILHO, 1999).

Para o teste de condutividade elétrica, tem-se verificado que teores de água muito baixos, $\leq 10\%$, ou muito altos $\geq 17\%$, apresentam influência significativa nos resultados da condutividade e que, portanto, devem ser ajustados para uma faixa entre 10 e 17% (TAO, 1978; LOEFFLER et al., 1988; VIEIRA et al., 2002) sendo que independente do valor, o mais importante é a uniformidade entre os lotes (VIEIRA & KRZYZANOSWSKI, 1999). Observou-se que em sementes com teores de água inferiores a 11%, os valores de condutividade elétrica apresentavam valores muito altos, ocorrendo o inverso para sementes com teores de água mais altos, onde os dados apresentaram uma tendência de estabilização ao redor de 13% (VIEIRA et al., 2002).

Apesar das sementes apresentarem teor de água inicial abaixo do ideal, as sementes dessa cultivar (Embrapa 48) peneiras 5,5 e 6,5, mostraram resultados dentro dos mesmos padrões como citado anteriormente. O interesse nesse trabalho foi a uniformização do lote, mantendo o teor de água inicial, mesmo depois de passar pelo processo de inoculação das sementes.

4.2. Crescimento micelial do fungo em meio de cultura

Pelo ensaio “in vitro”, verifica-se na Tabela 2, que a restrição hídrica promovida pelo manitol (-1,0 MPa) não inibiu o crescimento micelial dos fungos *P. sojae* e *C. dematium* var. *truncata*, tendo ocorrido o contrário, promoveu o crescimento micelial desses organismos quando comparado com o meio BDA sem restrição hídrica (0,0 MPa). Também, MACHADO et al. (2001) obtiveram resultados semelhantes usando-se os mesmos patógenos.

4.3. Qualidade sanitária dos lotes de sementes

Observaram-se que as sementes de soja estudadas (testemunha e semente testemunha do meio BDA (-1,0 MPa)), apresentavam inicialmente baixa incidência (%)

de fungos *P. sojae* e *C. dematium* var. *truncata*, variando entre 0,0 a 1,5% (Tabela 3). Após a inoculação artificial, por período de 20 horas, verificou-se, aumento da incidência desses fungos. Verificou-se maior incidência na peneira 5,5 onde, o fungo *P. sojae* obteve 72,5% em sementes sem desinfestação e 25% em sementes com desinfestação e o fungo *C. dematium* var. *truncata*, obteve incidência de 79,5% em sementes sem desinfestação e 3% em sementes com desinfestação. A cultivar Embrapa 48 é considerada como moderadamente resistente ao fungo *P. sp*, apresentando reação de 26 a 50% de plântulas mortas, de acordo com a tabela de reação das cultivares (EMBRAPA, 2006).

Tabela 2. Diâmetro de colônia (cm) e índice do crescimento micelial dos fungos *Phomopsis sojae* e *Colletotrichum dematium* var. *truncata*, em meio de cultura BDA e BDA acrescido de Manitol (-1,0 MPa).

Fungos	BDA	BDA + Manitol (-1,0 MPa)
Diâmetro de colônia		
<i>Phomopsis sojae</i>	6,89 b	8,60 a
<i>Colletotrichum dematium</i> var. <i>truncata</i>	5,80 b	8,46 a
Índice do crescimento micelial		
<i>Phomopsis sojae</i>	1,44 b	1,89 a
<i>Colletotrichum dematium</i> var. <i>truncata</i>	0,69 b	0,95 a

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$)

Foram também encontrados nesse lote de sementes outros fungos os quais foram identificados (Tabela 4) e estão comumente associados à semente de soja (HENNING, 1994)

Tabela 3. Incidência (%) dos fungos *Phomopsis sojae* e *Colletotrichum dematium* var. *truncata* em lotes de soja, cultivar Embrapa 48, após inoculação artificial das sementes.

Testemunha ¹				BDA (-1,0 MPa) ²				Sementes Inoculadas ³			
SD ⁴		CD		SD		CD		SD		CD	
5,5 ⁵	6,5	5,5	6,5	5,5	6,5	5,5	6,5	5,5	6,5	5,5	6,5
<i>P. sojae</i>											
0,5	1,0	0,5	0,0	0,0	1,5	0,0	0,5	72,5	64,0	25,0	8,5
<i>C. dematium</i> var. <i>truncata</i>											
1,0	0,5	0,0	0,0	0,5	1,0	0,5	1,0	79,5	75,0	3,0	2,0

¹Testemunha - sementes não inoculadas, como recebidas no laboratório; ²Sementes não inoculadas desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio e sobrepostas em meio de cultura BDA (-1,0 MPa), pelo período de 20 horas; ³Sementes desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio e inoculadas com os fungos *P. sojae* (-1,0 MPa), e *C. dematium* var. *truncata* (-1,0 MPa), pelo período de 20 horas. ⁴Desinfestação: sementes sem desinfestação (SD) e com desinfestação (CD), ⁵Peneira 5,5 e 6,5.

Tabela 4. Incidência (%) dos fungos associados às sementes de soja cultivar Embrapa 48 após a inoculação artificial das sementes.

Fungos	Cla	Asp	Nig	Fus	Pen	Cur		Cla	Asp	Nig	Fus	Pen	Cur
Sem desinfestação								Com desinfestação					
Peneiras	Sementes testemunhas												
5,5	4,0	2,0	1,0	0,0	0,0	0,0		2,0	0,0	1,0	3,0	0,0	3,5
6,5	9,0	4,0	0,5	0,5	1,5	0,0		0,5	0,5	0,5	0,5	0,0	0,0
Peneiras	Sementes no meio de cultura BDA + Manitol (-1,0 MPa)												
5,5	3,0	1,0	2,0	2,0	0,5	0,5		0,0	0,5	1,0	0,5	0,5	2,0
6,5	3,0	1,0	1,5	0,5	2,0	0,5		0,5	0,5	0,5	1,0	0,0	1,0
Peneiras	Sementes Inoculadas com o fungo <i>P. sojae</i> (-1,0 MPa)												
5,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0
Peneiras	Sementes inoculadas com o fungo <i>C. dematium</i> var. <i>truncata</i> (-1,0 MPa)												
5,5	0,5	1,5	0,0	0,0	1,5	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Cla = *Cladosporium* sp; Asp = *Aspergillus* sp; Nig = *Nigospora* sp; Fus = *Fusarium* sp; Pen = *Penicillium* sp; Cur = *Curvularia* sp), em sementes de soja, cultivar Embrapa 48.

4.4. Potencial fisiológico das sementes

4.4.1. Desempenho germinativo

Existe variação na percentagem de germinação em sementes de soja infectadas por *Phomopsis* sp., de um mesmo lote, em períodos distintos, ou seja, em sementes

armazenadas em condições ambientais, o fungo perde viabilidade rapidamente, ocorrendo paralelamente melhora do desempenho germinativo em laboratório. Esse aumento na germinação depende do potencial fisiológico inicial da semente (HENNING, 1994). Porém, as plântulas que conseguem emergir são fracas e ou têm cotilédones infectados, resultando em plantas sistematicamente infectadas, cujos sintomas só aparecem quando se aproxima da maturidade. Dependendo da incidência do fungo *Phomopsis sp.* em semente de soja, o teste padrão de germinação (rolo de papel, 25 °C) pode tornar-se inviável, enquanto que, o mesmo lote testado em caixa plástica com areia (germinação em areia) pode tornar o teste viável. Por esta razão, o teste de germinação em rolo de papel pode ser substituído pelo teste de germinação em areia (HENNING & FRANÇA NETO, 1980).

Analisando-se os resultados dos valores de F para o teste de germinação em areia (Tabela 5), observou-se diferença significativa de peneiras e tratamentos.

Tabela 5. Germinação de sementes de soja, em areia, em função do tamanho de sementes (peneiras 5,5 e 6,5) e dos tratamentos: testemunha (ST), semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0MPa) (STB), sementes inoculadas com *Phomopsis sojae* (SIP) e sementes inoculadas com *Colletotrichum truncata* (SIC).

Peneiras	ST	STB	SIP	SIC	Média
----- % -----					
5,5	92	66	69	68	74 B
6,5	95	77	77	70	80 A
Médias	94 a	72 b	73 b	69 b	
CV (%)	7,5				
Peneiras			15,5**		
Teste F Tratamentos			52,5**		
Peneiras X Tratamentos			1,7 ^{ns}		

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$); CV(%) = Coeficiente de Variação; **Diferença significativa a 1% de probabilidade ($P<0,01$); ^{ns}Valores não diferem significativamente.

A germinação em areia, para os tratamentos: semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0 MPa) (STB), sementes inoculadas com *P. sojae* (-1,0 MPa) (SIP) e com *C. dematium* var. *truncata* (-1,0 MPa) (SIC), apresentou valores estatisticamente iguais. Com exceção da testemunha (ST), sementes puras e sem nenhum tratamento, que não passou pelo processo de inoculação, apresentou ótimo desempenho e foi estatisticamente diferente dos demais (Tabela 5).

Um fator que pode estar relacionado com o baixo desempenho germinativo das sementes inoculadas é a suscetibilidade da cultivar Embrapa 48 ao dano por embebição (FRANÇA NETO et al., 1998), fato que se deve a problemas de rápida embebição, fator controlado pelo tegumento (FRANÇA NETO et al., 1993).

O Teste F, com relação às peneiras (5,5 e 6,5), tanto para germinação (Tabela 5) quanto para o vigor (Tabela 6), apresentou diferença significativa. Isso pode ser explicado pelo fato das sementes da peneira 6,5 inicialmente apresentarem melhor potencial fisiológico e sanitário (Tabela 3).

Essa variabilidade, ou falta de correlação, está associada à localização do inóculo na semente, sendo maior se ele estiver localizado apenas no tegumento (ZORRILA et al., 1994). Se, contudo, o inóculo encontrar-se nos cotilédones, a correlação mantém-se em todas as condições ambientais (DHINGRA & ACUÑA, 1997).

4.4.2. Vigor das Sementes

Analisando-se os dados da Tabela 6, observa-se que, para os tratamentos o teste F foi significativo ($P < 0,01$) para todos os testes de laboratório (índice de velocidade de emergência em areia, teste de frio, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica) e emergência de plântulas em campo e, enquanto que para as peneiras, o teste F foi significativo ($P < 0,01$) para todos os testes em laboratório. A interação foi significativa apenas para o teste de envelhecimento acelerado.

Tabela 6. Valores de F para o índice de velocidade de emergência (IVE) em areia, testes de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA), condutividade elétrica (CE) e emergência de plântulas em campo (EC) de sementes de soja, cultivar Embrapa 48.

Teste F	IVE	TF	EA	CE	EC
Peneira (P)	33,3**	34,9**	26,9**	14,8**	1,16 ^{ns}
Tratamento (T)	75,2**	47,3**	151,9**	31,9**	11,11**
P x T	1,1 ^{ns}	2,1 ^{ns}	4,7**	1,1 ^{ns}	0,77 ^{ns}

**Diferença significativa a 1% de probabilidade ($P < 0,01$); ^{ns}Valores não diferem significativamente.

O vigor avaliado (Tabela 7) pelo índice de velocidade de emergência, teste de frio e a emergência de plântulas no campo não apresentou diferença significativa entre os tratamentos: semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0 MPa) (STB), sementes inoculadas com *Phomopsis sojae* (-1,0 MPa) (SIP) e sementes inoculadas com *C. dematium* var. *truncata* (-1,0 MPa) (SIC). Verificou-se diferença significativa apenas em sementes testemunhas, e os demais tratamentos e entre peneiras.

No caso do teste de emergência de plântula no campo, as condições ambientais foram favoráveis, com dias chuvosos. Entretanto, a deterioração da semente após a semeadura é mais pronunciada, e o estabelecimento da população de plantas é menor se as sementes forem semeadas em solo com baixa umidade, que não permita rápida germinação e emergência da plântula, pois com baixa umidade no solo, o fungo *Phomopsis* spp. cresce rapidamente (GLEASON & FERRIS, 1985), reduzindo o número de plântulas emergidas. A correlação inversa entre porcentagem de sementes infectadas por *Phomopsis* spp. e porcentagem de germinação do lote de sementes (DHINGRA et al, 1979, HENNING & FRANÇA NETO, 1980), nem sempre é evidenciada em condições de campo, onde também ocorre grande variabilidade entre os resultados do teste de germinação, em laboratório e a emergência de plântulas em campo (DHINGRA & ACUÑA, 1997).

Tabela 7. Vigor avaliado pelo índice de velocidade de emergência de plântulas (em areia), teste de frio, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica e a emergência de plântulas em campo de semente de soja, inoculadas com *Phomopsis sojae* e *Colletotrichum dematium* var. *truncata*.

Peneiras	ST	STB	SIP	SIC	Média
----- Índice de Velocidade de Emergência -----					
5,5	13,5	10,3	9,6	9,5	10,7 B
6,5	14,3	11,3	10,8	11,2	11,9 A
Médias	13,9a	10,8 b	10,2 b	10,3 b	
CV (%)	6,7				
----- Teste Frio (%) -----					
5,5	84,8	62,3	59,8	59,5	73,8 B
6,5	87,7	70,8	72,8	70,0	79,9 A
Médias	86,2 a	66,5 b	66,3 b	64,8 b	
CV (%)	7,8				
----- Envelhecimento Acelerado (%) -----					
5,5	92,3 Aa	52,0 Bb	52,6 Ab	49,5 Bb	61,6
6,5	94,3 Aa	60,3 Abc	56,7 Ac	66,3 Ab	69,4
CV (%)	8,6				
----- Condutividade Elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) -----					
5,5	98,3	86,3	76,7	88,9	87,5 A
6,5	89,9	78,6	73,4	86,4	82,1 B
Médias	94,1 a	82,4 b	75,1 c	87,6 b	
CV (%)	6,2				
----- Emergência de Plântulas (%) -----					
5,5	91,8	69,0	71,8	75,3	79,6 A
6,5	92,3	76,3	76,8	73,0	76,9 B
Médias	92,0 a	74,2 b	74,1 b	72,7 b	
CV (%)	11,6				

Tratamentos: testemunha (ST), semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0 MPa) (STB), sementes inoculadas com *P. sojae* (-1,0 MPa) (SIP) e sementes inoculadas com *C. dematium* var. *truncata* (-1,0 MPa) (SIC). Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$); CV(%) = Coeficiente de Variação.

Com relação ao vigor avaliado pelo teste de envelhecimento acelerado (EA), verificou-se diferença significativa para a interação entre peneira e tratamento. Quando desdobrada a interação (Tabela 7), verifica-se que a menor germinação ocorreu na peneira 5,5 com sementes inoculadas com o fungo *C. dematium* var. *truncata*, que diferiu apenas da testemunha, onde a maior incidência deste fungo (Tabela 3) foi de

79,5% (sementes sem desinfestação) e de 3% (sementes com desinfestação). Quando se avaliou o fator tratamento, dentro da peneira 6,5mm, as sementes inoculadas com *P. sojae*, apresentaram menor percentagem de plântulas normais (56,7%), quando a incidência deste patógeno foi de 64% (sementes sem desinfestação) e de 8,5% (sementes com desinfestação) (Tabela 3), indicando menor vigor quando comparado os tratamentos STB [semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0 MPa)] e SIC [sementes inoculadas com *C. dematium* var. *truncata* (-1,0 MPa)].

Os danos provocados pelos patógenos, podem estar diretamente relacionados com o potencial de inóculo e com sua localização na semente (MACHADO, 1988). Além disso, sementes com alta qualidade fisiológica, apresentam maior resistência à penetração de microorganismos (MYCOCK & BERJAK, 1995).

Para todos os testes de vigor (Tabela 7), observa-se que houve diferença significativa entre a semente testemunha e a semente testemunha do meio de cultura BDA (-1,0 MPa). Neste caso, deve-se ressaltar que as sementes foram sobrepostas em meio de cultura BDA (-1,0 MPa), na qual passaram por um processo de embebição por 20 horas, atingindo teor de água de 28%, em ambas as peneiras (Tabela 1). Nos tratamentos SIP e SIC, verifica-se que, houve diferença significativa para o teste de envelhecimento acelerado (peneira 6,5) e para o teste de condutividade elétrica (CE).

No caso particular da condutividade elétrica, os tratamentos STB, SIP e SIC diferiram estatisticamente da testemunha (ST). Chama a atenção o fato de que o tratamento SIP (Sementes Inoculadas com *P. sojae* (-1,0 MPa)), apresentou o maior vigor, ao contrário do que indicou o teste de envelhecimento acelerado, menor vigor. O tratamento SIC [(sementes inoculadas com *C. dematium* var. *truncata* (-1,0 MPa)], apresentou resultado semelhante ao envelhecimento acelerado. Quando se analisa o teor de água que a semente atingiu após a inoculação (Tabela 1), com os dados da condutividade elétrica (Tabela 7), verifica-se que as sementes que foram inoculadas com o fungo *P. sojae* foi significativamente diferente da semente testemunha do meio de cultura BDA (-1,0 MPa). Porém, o teor de água destas sementes, atingiu maior percentual, 33,8 e 31,0%, para as peneiras 5,5 e 6,5 respectivamente. No entanto,

verifica-se que não houve correlação do teor de água com os resultados da condutividade elétrica (Tabela 7).

4.5. Composição química da solução de embebição

Analisando-se os resultados da lixiviação dos íons estudados (Tabela 8) verifica-se que o potássio e o magnésio apresentaram diferenças significativas ($P < 0,01$) para os tratamentos e peneiras, enquanto o cálcio e o sódio apresentaram diferença significativa ($P < 0,01$) apenas para os tratamentos, sendo que para o cálcio houve interação entre peneiras e tratamentos.

Tabela 8. Valores de F para lixiviação de potássio, cálcio, magnésio e sódio das sementes em função do tamanho e tratamentos da semente, cultivar Embrapa 48.

Teste F	Potássio	Cálcio	Magnésio	Sódio
Peneira (P)	17,8**	1,3 ^{ns}	14,9**	0,1 ^{ns}
Tratamento (T)	48,0**	70,0**	53,7**	66,7**
P x T	2,7 ^{ns}	3,8*	2,6 ^{ns}	0,3 ^{ns}

**Diferença significativa a 1% de probabilidade ($P < 0,01$); *Diferença significativa a 5% de probabilidade ($P < 0,05$); ^{ns} não significativo.

O potássio apresentou o maior valor de lixiviados comparado aos demais elementos estudados (Tabela 9). Este fato tem levado inúmeros pesquisadores a dar atenção especial ao íon potássio, sugerindo a quantidade de potássio lixiviado como parâmetro para avaliar o vigor de semente, visto que, como a condutividade elétrica, está relacionada com a integridade das membranas celulares (DIAS et al., 1995, 1997 e 1998; CUSTÓDIO & MARCOS FILHO, 1997; BARROS et al., 1999; VANZOLINI & NAKAGAWA, 2003).

Tabela 9. Lixiviação de potássio, cálcio, magnésio e sódio de sementes de soja, cultivar Embrapa 48, em função do tamanho de sementes (Peneiras 5,5 e 6,5) e dos tratamentos: testemunha (ST), semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0 MPa) (STB), sementes inoculadas com *P. sojae* (-1,0 MPa) (SIP) e sementes inoculadas com *C. dematium* var. *truncata* (-1,0 MPa) (SIC).

Peneiras	ST	STB	SIP	SIC	Média
----- Potássio (mg kg ⁻¹) -----					
5,5	2736,6	2341,6	1986,8	2319,0	2346,0 A
6,5	2447,0	2091,7	1897,0	2296,0	2183,0 B
Médias	2591,8 a	2216,7 b	1941,8 c	2307,5 b	
CV (%)	6,3				
----- Cálcio (mg kg ⁻¹) -----					
5,5	74,5 Aa	58,3 Ab	47,5 Ac	52,6 Bbc	58,2 A
6,5	74,5 Aa	53,5 Abc	51,6 Ac	59,2 Ab	59,7 A
Médias	74,5 a	55,9 b	49,5 c	55,9 b	
CV (%)	8,1				
----- Magnésio (mg kg ⁻¹) -----					
5,5	87,4	60,4	53,1	56,9	64,5 B
6,5	92,0	63,2	59,7	74,0	72,2 A
Médias	89,7 a	61,8 bc	56,4 c	65,5 b	
CV (%)	11,0				
----- Sódio (mg kg ⁻¹) -----					
5,5	47,0	80,2	76,2	84,0	71,8 A
6,5	46,1	77,5	74,5	86,8	71,2 A
Médias	46,5 c	78,8 ab	75,3 b	85,4 a	
CV (%)	10,9				

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05); CV(%) = Coeficiente de Variação.

Nos tratamentos, sementes inoculadas com *P. sojae* (-1,0 MPa) (SIP) e sementes inoculadas com *C. dematium* var. *truncata* (-1,0 MPa) (SIC), houve diferença significativa, para a lixiviação de potássio, cálcio, magnésio e sódio das sementes,

sendo o tratamento (SIP) o que apresentou os menores valores, com exceção da semente testemunha do lixiviado de sódio. As sementes testemunhas foram significativamente diferentes em todos os tratamentos.

Quanto ao íon cálcio, houve interação significativa ($P < 0,05\%$) entre peneiras e tratamentos. No entanto, para a peneira 5,5, o tratamento (SIP) foi significativamente diferente do STB, e, para a peneira 6,5 houve diferença significativa nos tratamentos SIP e SIC.. A variação observada particularmente para as sementes inoculadas com *P. sojae* (-1,0 MPa) (SIP) (Tabela 9) explica o menor valor obtido para condutividade elétrica (Tabela 7). Embora os resultados tenham mostrado que a presença do *P. sojae* em sementes de soja pode interferir nos resultados de lixiviação de potássio alguns autores (DIAS et al., 1995; VANZOLINI & NAKAGAWA, 2003) têm verificado que a quantidade do potássio lixiviado pode ser usado como parâmetro para avaliar o vigor de semente.

A dúvida que segue é porque sementes infectadas por *Phomopsis sojae* apresentam menor lixiviação de íons (K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , e Na^{++}) e conseqüentemente menor condutividade elétrica quando comparada com sementes em meio BDA (STB). Entretanto, resultados semelhantes foram obtidos, também, por Panizzi et al. (2005).

4.6. Composição química da semente

Analisando os dados de F (Tabela 10), os tratamentos e peneiras foram significativos para os íons: potássio ($P < 0,01$), cálcio ($P < 0,05$) e magnésio ($P < 0,01$), sendo que o sódio foi significativo ($P < 0,01$) apenas para as peneira. Houve interação para o magnésio entre peneira e tratamento. Verificamos que o resultado do conteúdo das sementes (Tabela 10) foi diferente dos resultados do lixiviado da semente (Tabela 8), para o cálcio, magnésio e sódio. Somente o potássio apresentou a mesma tendência (Tabela 10 e 8).

Tabela 10. Valores de F para teores de potássio, cálcio, magnésio e sódio em sementes de soja, cultivar Embrapa 48.

Teste F	Potássio	Cálcio	Magnésio	Sódio
Peneira (P)	59,8 **	4,85 *	177,76 **	256,27 **
Tratamento (T)	9,7 **	3,95 *	4,77 **	1,99 ^{NS}
P x T	0,8 ^{NS}	1,88 ^{NS}	7,55 **	0,46 ^{NS}

**Diferença significativa a 1% de probabilidade ($P < 0,01$); *Diferença significativa a 5% de probabilidade ($P < 0,05$); ^{NS}Valores não diferem significativamente.

Teores na semente de potássio (Pn 5,5 e 6,5), cálcio (Pn 5,5 e 6,5) e magnésio (Pn 5,5) (Tabela 11), apresentaram diferença significativa entre STB [semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0 MPa)] e SIC [(sementes inoculadas com *C. dematium* var. *truncata* (-1,0 MPa)]. Quanto ao magnésio, na peneira 5,5, houve diferença significativa para os tratamento STB e SIC, enquanto que para a peneira 6,5 não houve diferença significativa entre todos os tratamentos.

Quando se relaciona os resultados de ocorrência do fungo *P. sojae* (cuja maior incidência ocorreu em sementes inoculadas com desinfestação superficial - Tabela 3) com a condutividade elétrica, verifica-se que o tratamento SIP (sementes inoculadas com *P. sojae* (-1,0 MPa)) foi aquele cujas sementes apresentaram melhor vigor pelo teste de condutividade elétrica (Tabela 7). Esse resultado sugere que o fungo consumiu íons de potássio da semente, no período de 20h de inoculação. Essa observação pode ser explicada pelo resultado da lixiviação de potássio (Tabela 9) que foi de menor valor, e, pela composição química da semente (Tabela 11), que não diferiu dos tratamentos STB [semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0 MPa)], indicando que o íon potássio, por estar presente no fungo, não foi liberado quando a semente foi embebida.

O conteúdo de fósforo e carbono na semente foi significativo ($P < 0,01$) entre as peneiras 5,5 e 6,5 e o nitrogênio apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Ocorrendo interação entre peneira e tratamento somente para o conteúdo de fósforo (Tabela 12).

Tabela 11. Teores de potássio, cálcio, magnésio e sódio em sementes de soja, cultivar Embrapa 48, em função do tamanho (Peneiras 5,5 e 6,5) e dos tratamentos: testemunha (ST), semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0 MPa) (STB), sementes inoculadas com *P. sojae* (SIP) e sementes inoculadas com *C. dematium* var. *truncata* (SIC).

Peneiras	ST	STB	SIP	SIC
Potássio (mg kg⁻¹)				
5,5	17,4	17,2	16,9	16,6
6,5	16,6	16,3	16,2	16,1
Médias	17,0 a	16,8 ab	16,5 bc	16,3 c
CV (%)	2,0			
Cálcio (mg kg⁻¹)				
5,5	1,4	1,5	1,4	1,4
6,5	1,4	1,4	1,4	1,3
Médias	1,41 ab	1,42 a	1,37 ab	1,35 b
CV (%)	3,8			
Magnésio (mg kg⁻¹)				
5,5	1,95 Bbc	1,90 Bc	1,99 Bab	2,01 Ba
6,5	2,10 Aa	2,10 Aa	2,10 Aa	2,08 Aa
CV (%)	1,83			
Sódio (mg kg⁻¹)				
5,5	2,48	2,60	2,56	2,58
6,5	3,33	3,58	3,48	3,38
Médias	2,90 a	3,09 a	3,02 a	2,98 a
CV (%)	7,03			

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05); CV(%) = Coeficiente de Variação.

Tabela 12. Valores de F para conteúdo de fósforo, carbono, nitrogênio em sementes de soja, cultivar Embrapa 48.

Teste F	Fósforo	Carbono	Nitrogênio
Peneira (P)	46,0 **	42,67 **	0,43 ^{NS}
Tratamento (T)	0,6 ^{NS}	0,14 ^{NS}	9,63 **
P x T	3,7 *	1,84 ^{NS}	2,59 ^{NS}

**Diferença significativa a 1% de probabilidade (P<0,01); *Diferença significativa a 5% de probabilidade (P<0,05); ^{NS}Valores não diferem significativamente.

Verifica-se na Tabela 13 que não houve diferença significativa entre os tratamentos STB [semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0 MPa)], SIP (sementes inoculadas com *P. sojae* (-1,0 MPa)) e SIC [(sementes inoculadas com *C. dematium* var. *truncata* (-1,0 MPa)].

Tabela 13. Conteúdo de fósforo, carbono, nitrogênio em sementes de soja, em função do tamanho (Peneiras 5,5 e 6,5) e dos tratamentos: testemunha (ST), semente testemunha em meio de cultura BDA (-1,0 MPa) (STB), sementes inoculadas com *Phomopsis sojae* (SIP) e sementes inoculadas com *Colletotrichum dematium* var. *truncata* (SIC).

Peneiras	ST	STB	SIP	SIC	Média
Fósforo (mg kg⁻¹)					
5,5	5,2 Bb	5,2 Bab	5,3 Bab	5,3 Aa	5,2 B
6,5	5,4 Aa	5,5 Aa	5,4 Aa	5,4 Aa	5,4 A
CV (%)	1,9				
Carbono (mg kg⁻¹)					
5,5	458,6	458,8	461,4	455,3	458,5 B
6,5	469,2	471,5	469,5	475,8	471,5 A
Médias	463,9 a	465,4 a	465,4 a	465,5 a	
CV (%)	1,6				
Nitrogênio (mg kg⁻¹)					
5,5	56,8	56,7	55,5	54,6	55,9 A
6,5	59,5	56,0	55,0	54,4	56,2 A
Médias	58,1 a	56,3 ab	55,2 b	54,5 b	
CV (%)	3.37				

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05); CV(%) = Coeficiente de Variação.

V. CONCLUSÃO

A presença do fungo *Phomopsis sojae* pode interferir nos resultados do teste de condutividade elétrica, o mesmo não ocorreu com o fungo *Colletotrichum dematium* var. *truncata*.

Sugerem-se novos estudos para verificar a possibilidade do fungo *Phomopsis* consumir potássio rapidamente da semente, alterando os resultados nos testes de vigor.

IV. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABDEL SAMAD, I. M.; PEARCE, R. S. Leaching of ions, organic molecular, and enzymes from seed of peanut (*Arachis hypogaea* L.) imbibing without testas or with intact testas. **Journal Experimental Botany.**, Oxford, v. 29, n. 112, p. 1471-1478, 1978.

ABDUL-BAKI, A. A.; ANDERSON, J. D. Viability and leaching of sugars from germinating barley. **Crop Science**, Madison, v.10, n.1, p.31-34, 1970.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS – AOSA. Seed vigor testing handbook. Eastlasing: AOSA. 2002. 103P. (contibuition, 32).

BANZATTO, D. A; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. 4.ed. Jaboticabal:Funep. 2006, 237p.

BARROS, M. A.; OHSE, S.; MARCOS-FILHO, J. Ion leakage as na indicator of. Vigor in field bean seeds. **Seed Technology**, v. 21, n.1, p. 44-48, 1999a.

BARROS, A.S.R.; LIMA DIAS, M.C.L; CICIERO, S.M.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de frio. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: Abrates, 1999b. cap. 5, p. 1-15.

BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas, Instituto Agrônômico de Campinas, 1983. 78p. (Boletim Técnico, 78).

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, 1992. 365 p.

BRACCINI, A.L.; REIS, M. S.; SEDIYAMA, C.S.; SEDIYAMA T. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária da semente de genótipo de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com diferentes graus de impermeabilidade do tegumento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.16, n.2, p.195-200, 1994.

BRACCINI, A.L.; SÁ MOTTA, I.; SCAPIM, C.A.; BRACCINI, M.C.L.; ÁVILA, M.R.; SCHUAB, S.R.P. Semeadura da soja no período de safrinha: potencial fisiológico e sanidade das sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.25, n.1, p.76-86, 2003.

CARVALHO, J.C. **Uso da restrição hídrica na inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1999. 98f. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

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

CHING, T.M.; SCHOOLCRAFT, I. Physiological and chemical differences in aged seeds. **Crop. Science**. Madson, v.8, n.4, p.407-409, 1968.

COLETE, J.C.F.; VIEIRA, R.D.; DUTRA, A.S. Electrical conductivity and soybean seedling emergence. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 61, n. 4, p. 386-391, 2004.

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

DIAS, D.C.F.S.; VIEIRA, A.N.; BHÉRING, M.C. Condutividade elétrica e lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de hortaliças: feijão-de-vagem e quiabo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 408-413, 1998.

DIAS, D.C.F.S.; MARCOS-FILHO, J.; CARMELLO, Q.A.C. Potassium leakage test for the evaluation of vigour in soybean seeds. **Seed Science & Technology**, Zürich, v.25, n.1, p.7-18, 1997.

DIAS, D.C.F.S.; MARCOS FILHO, J.; CARMELO, Q.A.C. Testes de lixiviação de potássio para a avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.5, n.3, 1995.

DHINGRA, O.D.; GARCIA, A.; SEDIYAMA, T. Effect of planting time on seed infection by *Phomopsis sojae* in tem soybean cultivars. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 4, p. 435-440, 1979.

DHINGRA, O.D.; ACUÑA, R.S. **Patologia de sementes de soja**. Viçosa: Ed. UFV, 1997. 119 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Tecnologia de produção de soja, região central do Brasil - 2006**. Londrina: Sistema de Produção/EMBRAPA-Soja, 2006. 220 p.

FERGUSON, J.M. **Metabolic and biochemical changes during the early stage of soybean seed deterioration**. 1988. 137 f. Dissertation (PhD) - University of Kentucky, Lexington, USA, 1988

FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. **Diacon**: diagnóstico completo da qualidade de sementes de soja. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1992, 22 p. (Circular Técnica, 10).

FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. **Qualidades fisiológicas e sanitárias de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1984. 39 p. (Circular Técnica, 9).

FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. Dano de embebição – Um problema comum no teste padrão de germinação de sementes de soja. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 3, n. 2, p. 10, 1993.

FRANÇA NETO, J.B., KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A.; COSTA, N.P. **Suscetibilidade das principais cultivares de soja utilizada no Brasil ao dano de embebição no teste de germinação**. Londrina: EMBRAPA-Soja, p. 1-10, 1998. (Comunicado Técnico, n. 60).

GLEASON, M.L.; FERRIS, R.S. Influence of water potential on the performance of soybean seeds infected by *Phomopsis* sp. **Phytopathology**, St Paul, v. 75, p.1236-1241, 1985.

GOULART, A.C.P. **Fungos em sementes de soja: detecção e importância**. Dourados: EMBRAPA-CPAO, 1997. 58 p.

HAMMAN, B.; HALMAJAN, H.; EGLI D.B. Single seed conductivity and seedling emergence in soybean. **Seed Science Technology**, Zurich, v.29, p. 575-586, 2001.

HAMPTON, J.G.; JOHNSTONE, K.A.; EUA-UMPON,V. Bulk conductivity test variables for mungbean, soybean and French bean seed lots. **Seed Science & Technology**, Zurich, v.20, n.3, p.667-86, 1992.

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. **Handbook of vigour test methods**. Zurich: ISTA. 1995. 117 p.

HENNING, A.A. **Patologia de sementes**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1994. 43p. (Documentos, 90).

HENNING, A.A; FRANÇA NETO, J.B. Problemas na avaliação da germinação de sementes de soja com alta incidência de *Phomopsis* sp. **Revista brasileira de Sementes**, Brasília, v. 2, n. 3, p. 9-22, 1980.

ILYAS, M.B.; DHINGRA, O.D.; ELLIS M.A.; SINCLAIR, J.B. Location of mycelium of *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* and *Cercospora kikuchii* in infected soybean seeds. **Plant Disease Reporter**, v.59, p.17-19, 1975.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION – ISTA. **International rules for seed testing**. Seed Science and Technology, Zurich, v. 24, supplement, p. 1-335,. 1996.

KRZYŻANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B. Vigor de sementes, **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 11, n. 3, p. 81-84, 2001.

LIMONARD, T. A modified blotter test for seed health. **Netherlands Journal of Plant Pathology. Plant Pathology**, Wageningen v.72, p.319-321, 1966.

LOEFFLER, T.M.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, Michigan, v. 12, n. 1, p. 37-53, 1988.

LOOMIS, E.L.; SMITH, O. The effect of artificial aging on the concentration of Ca, Mg, Mn, K, and Cl in imbibing cabbage seed. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.105, n.5, p.647-650, 1980.

LOTT, J.N.A.; CAVDEK, V.; CARSON, J. Leakage of k, Mg, Cl, Ca and Mn from imbibing seeds, grains and isolated seed parts. **Seed Science. Research.**, Wallingford, v.1, n.4, p.229-233, 1991.

MACHADO, J. C. **Patologia de sementes**: fundamentos e aplicações. Brasília: MEC/ESAL/FAEPE, 1988. 107 p.

MACHADO, J.C.; OLIVEIRA, J.A.; VIEIRA, M.G.G.C.; ALVES, M.C. Inoculação artificial de sementes de soja por fungos, utilizando solução de manitol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.2, p.95-101, 2001.

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

MANN, E. N.; RESENDE, P.M.; MANN, R.S.; CARVALHO, J.G.; VON PINHO, E.V.R. Efeito da aplicação de manganês no rendimento e na qualidade de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 12, p.1757-1764, 2002.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: Abrates, 1999. cap. 3, p. 1-24.

MARCOS FILHO. J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005 (Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 12), 495 p.

MARCOS-FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230 p.

MARCOS FILHO, J.; NOVENBRE, A.D.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Tamanho da semente e o teste de envelhecimento acelerado para soja. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, 2000.

MARCOS-FILHO, J.; SILVA, W.R.; NOVENBRE, A.D.C.; PESCARIN-CHAMMA, H.M.C. Estudo Comparativo de métodos para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, n. 12, p. 1805-1815, 1990.

MATTEWS, S.; BRADNOCK, W.T. Relationship between seed exudation and field emergence in peas and French beans. **Horticultural Review**, Atlantha, v.8, p.89-93,1968.

MATTEWS, S.; POWELL, A.A. Electrical conductivity test. In: Perry, D.A. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. Zürich: ISTA, 1981, p.37-42.

MYCOCK, D. J.; BERJAK, P. The implications of seed associated mycoflora during store. In: JAIME, K.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York-Basel: Hang Yong; 1995. p. 747 – 766.

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. 2, p. 1-24.

NAKAGAWA, J.; CAVARIANAI, C.; GUISTEM, J.M. Efeito da adubação fosfatada e potássica no teste de condutividade elétrica das sementes de aveia-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 302-308, 2001.

NEEDGARD, P. **Seed Pathology**. 2. ed. London: MicMillan, 1979, v. 2., p.

PANIZZI, R.C.; VIEIRA, R.D.; RAMOS, D.P.; GALLI, J.A. Germinação e vigor (envelhecimento acelerado e condutividade elétrica) em sementes altamente infectadas por patógenos. In: Congresso Brasileiro de Sementes, 14. Foz do Iguaçu, Abrates, Resumos Informativo Abrates, Pelotas, v.15, p.176, 2005.

PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R.D., Electrical conductivity of soybean soaked seeds. I. Effect of genotype. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n.9, p.621-627, 1996.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant physiology**. 4 ed. Belmont: Wadsworth, 1991. 682 p.

SILVA, M.A.D. **Morfologia da testa e o potencial fisiológico de sementes de soja**. 2003. 84f. Tese (Doutorado em Produção e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

SCHNEIDER, R.W.; DHINGRA, O.D.; NICHOLSON, J.F.; SINCLAIR, J.B. *Colletotrichum truncatum* borne within the seed coat of soybean. **Phytopathology**, St Paul, v.64, p.154-155, 1974.

TAO, K.L.J. Factors causing variations in the conductivity test for soybean. **Journal of Seed Technology**, Michigan, v.3, n.1, p.10-18, 1978.

TIFFANY, L.M. Delayed sporulation of *Colletotrichum* on soybean. **Phytopathology**, Lancaster, v.41, p.975-85, 1951.

VANZOLINI, S.; NAKAGAWA, J. Lixiviação de potássio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.2, p.7-12, 2003.

VANZOLINI, S.; CARVALHO, N.M. Efeito do vigor de sementes de soja sobre o seu desempenho em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 33-41, 2002.

VECHIATO, H.M.; KOHARA, E.Y.; MENTEN, J.O.M. Transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, v.23, n.3/4, p.265-268, 1997.

VIEIRA, R.D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: Funep, 1994. p. 103-132.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M.; SADER, R. Testes de vigor e suas possibilidades de uso. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (ed.) **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal:Funep. 1994. p.31-47.

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

VIEIRA, R.D.; PAIVA-AGUERO, J.A.; PERECIN, D.; BITTENCOURT, S.R.M. Correlation of electrical conductivity and other vigor tests with field emergence of soybean seedlings. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 27, p. 67-75, 1999.

VIEIRA, R.D; PENARIOL, A.L.; PERECIN, D.; PANOBIANCO, M. Condutividade elétrica e teor de água inicial das sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1333-1338, 2002.

VIEIRA, R.D.; PANOBIANCO, M.; LEMOS, L.B.; FORNASIERI FILHO, D. Efeito de genótipos de feijão e de soja sobre os resultados da condutividade elétrica em sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.18, n.2, p.220-224, 1996.

VIEIRA, R.D.; SCAPPA NETO, A.; BITTENCOURT, S.R.M.; PANOBIANCO, M. Electrical conductivity of the seed soaking solution and soybean seedling emergence. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.61, n.2, p.164-168, 2004.

VIEIRA, D.R.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B.; RUCHER, M. Electrical conductivity of soybean seeds after storage in several environments. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.9, n.3, p.599-608, 2001.

WOODSTOCK, L.W.; Physiological and biochemical test for seed vigor. **Seed Science & Technology**, Zurich, v.1, n.1, p. 127-157, 1973.

ZORRILA, G.; KNAPP, A.D.; MCGEE, D.C. Severity of *Phomopsis* seed decay, seed quality evaluation, and field performance of soybean. **Crop Science**, Madison, v.34, p.172-177, 1994.