

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**MORFOLOGIA DA TESTA E POTENCIAL FISIOLÓGICO DE
SEMENTES DE SOJA**

Monalisa Alves Diniz da Silva

Orientador: Prof. Dr. Roberval Daiton Vieira

**Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias,
Câmpus de Jaboticabal, UNESP, para
obtenção do Título de Doutor em
Agronomia, Área de Concentração em
Produção e Tecnologia de Sementes.**

**JABOTICABAL - SP
Fevereiro – 2003**

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MONALISA ALVES DINIZ DA SILVA – Filha de Antônio Diniz da Silva e Neusa Maria Alves Diniz da Silva, nasceu em 20 de setembro de 1972, em São Paulo – São Paulo. É Engenheira Agrônoma, formada 1992, pela Universidade Federal da Ceará e Mestre em Agronomia (Fitotecnia) em 1997 pela Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

AOS MEUS PAIS

Antonio e Neusa

A MEU ESPOSO

Alexandre

OFEREÇO E DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir alcançar mais uma vitória na longa caminhada da vida.

A UNESP, Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade e condições oferecidas durante a realização do curso.

A CAPES, pela concessão da bolsa de Doutorado.

Ao Prof. Dr. Roberval Daiton Vieira, pela orientação, apoio e amizade.

Ao Prof. Dr. Jaime Maia do Santos, pelo entusiasmo e orientação.

Aos meus pais, pelas orações, apoio incondicional e amor.

As amigas de pós-graduação, em especial a Edilma Pereira Gonçalves, Gilmara Mabel Santos, Edna Ursulino Alves, Nivânia Pereira da Costa, Silvelena Vanzolini, Caciana Cavalcante Costa, Elma Ataíde, Araci, Gisele Bonacim, Elizabeth Mendonça Furtado, Cristiane Alves Fogaça, Josué Bispo, Simone Aparecida Fessel, Fabiana de Simoni, Fábio Viana pela amizade, solidariedade, companheirismo e convivência.

Aos profs. Drs. da FCAV/UNESP, especialmente a Rinaldo César de Paula, Teresinha de Jesus Deléo Rodrigues, Domingos Fornasieri Filho pelos conhecimentos transmitidos, compreensão e amizade.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal/FCAV/UNESP, em especial a Lázaro José Ribeiro da Silva e Rubens Libório.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigada.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Armazenamento de Sementes.....	3
2.2. Deterioração.....	6
2.3. Testa da Semente de Soja.....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1. Potencial Fisiológico Inicial.....	16
a. Teor de água.....	16
b. Germinação.....	17
c. Envelhecimento acelerado.....	17
d. Teste frio.....	17
e. Condutividade elétrica.....	18
f. Comprimento da plântula.....	18
g. Matéria seca da plântula.....	18

h. Emergência das plântulas em campo.....	18
i. Teor de lignina.....	19
3.2. Experimento I. Anatomia da testa de sementes de soja submetidas a condições de envelhecimento acelerado	19
3.3. Experimento II. Potencial fisiológico e anatomia da testa de sementes de soja armazenadas em câmara fria e em condições ambientais do laboratório de sementes.....	20
3.4. Análise dos Dados.....	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4.1. Experimento I. Anatomia da testa de sementes de soja submetidas a condições de envelhecimento acelerado.....	23
4.2. Experimento II. Potencial fisiológico e anatomia da testa de sementes de soja armazenadas em câmara fria e em condições ambientais do laboratório de sementes.....	38
5. CONCLUSÕES.....	64
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
7. APÊNDICE.....	83

RESUMO

Durante o envelhecimento das sementes, a redução do potencial fisiológico é consequência do processo de deterioração que pode levar a alterações na anatomia da testa, as quais tendem a interferir no processo de embebição, e consequentemente, no potencial fisiológico. O presente trabalho teve como objetivo avaliar anatomicamente a testa de sementes de dois cultivares de soja, por intermédio do uso da microscopia eletrônica de varredura, após o envelhecimento acelerado e o armazenamento, assim como a seu potencial fisiológico. Foram conduzidos dois experimentos, no primeiro os tratamentos consistiram de cinco períodos de envelhecimento acelerado (0, 24, 48, 72 e 96 horas) a 42°C e, aproximadamente, 100% de umidade relativa do ar. Findo os períodos de envelhecimento foram avaliados o teor de água das sementes e a germinação; e, posteriormente, após secagem em estufa com circulação de ar, seções transversais da testa de 10 sementes de cada tratamento foram eletromicrografadas. No segundo experimento, os tratamentos constaram do armazenamento das sementes, em câmara fria e ambiente de laboratório, e três períodos de avaliação, zero, três e seis meses, com avaliações do teor de água, da germinação, do vigor (comprimento de plântula, matéria seca, envelhecimento acelerado, frio, condutividade elétrica e emergência de plântula), da anatomia da testa, com o uso da microscopia eletrônica de varredura. Houve redução do

potencial germinativo e o aumento do colapso das células da camada hipodérmica da testa, de ambas as cultivares, à medida que o período de envelhecimento acelerado aumentou. O teste de condutividade elétrica detectou diferenças significativas entre os períodos de armazenamento para as sementes armazenadas em laboratório, para as duas cultivares. O armazenamento das sementes por seis meses, tanto em câmara fria como em laboratório, contribuiu para um maior colapso das células da camada hipodérmica da testa, em relação as sementes não envelhecidas. O envelhecimento acelerado causa alterações na camada hipodérmica da testa de sementes de soja; as quais podem estar relacionadas à redução do potencial germinativo. O colapso das células da camada hipodérmica, em função do tempo e das condições em que as sementes são armazenadas, contribui para o aumento da lixiviação de eletrólitos.

Palavras-Chave: Microscopia eletrônica de varredura, envelhecimento acelerado, armazenamento.

SUMMARY

During the aging of the seeds, the reduction of the physiologic potential is consequence of the deterioration process that can lead to alterations in the anatomy of the coat, which tend to interfere in the process of imbibition, and consequently, in the physiologic potential of the seed. The present work had as objective to evaluate anatomically the coat of seeds of two soybean cultivars, through the use of the scanning electron microscopy, after the accelerated aging and the storage, as well as the physiologic potential. Two experiments were conducted, in the first, treatments consisted of five periods of accelerated aging (0, 24, 48, 72 and 96 hours) at 42°C and approximately 100% of relative humidity of the air. At the end of the aging periods, the water content of the seeds and the germination percentage were appraised; later, after drying process in oven with air circulation, traverse sections of 10 seedcoat of each treatment were eletromicrographed. In the experiment two, the treatments consisted of the storage of the seeds in two different conditions: cold ambient and laboratory conditions,

and three evaluation instances zero, three and six months, respectively, after, of storage. At these occasions, the following determinations were made: water content, seed germination, and vigor evaluated by the tests: seedlings length, dry matter, accelerated aging, cold, electric conductivity and seedlings field emergence. The evaluation of the anatomy of the coat with the use of the scanning electron microscopy followed the same procedure of the experiment 1. There were reduction of the germination potential and increase of the collapse of the hypodermic layer of the coat, of both cultivars, as the period of accelerated aging increased. The storage of the seeds for six months, under cold ambient and under laboratory, conditions can influence a larger collapse of the hypodermic layer of the coat. The accelerated aging favored anatomical alterations in the hypodermic layer of the coat of soybean seeds; a concomitant reduction of the seed physiological potential was observed. The collapse of the hypodermic layer, in function of the time and of the conditions in that the seeds are stored, may have influenced the increase of the electrical conductivity.

Key-words: Scanning electron microscopy, accelerated aging, storage.

1. INTRODUÇÃO

Após as sementes terem atingido o ponto de maturidade fisiológica, estas ficam susceptíveis as variações ambientais e, antes da colheita, ao se desligarem da planta-mãe passam a estar “armazenadas” no campo. No caso particular da semente de soja, a constituição da testa permite tanto a perda como o ganho de água, não só quando ainda encontra-se no campo, o que contribui para a ocorrência de danos por umidade, ataque de microrganismos, germinação na planta-mãe, e a aceleração do processo de deterioração, como também quando está armazenada, o que acaba interferindo no potencial fisiológico, particularmente, quando as condições do armazém não são favoráveis à sua conservação.

A interferência do tegumento da semente em relação ao seu comportamento perante as condições ambientais e de manejo, dá-se pelo fato de se constituir em uma camada protetora, ou seja, é o que limita a parte interna da semente com o meio ambiente fazendo com que o embrião esteja protegido contra injúrias mecânicas e da ação de microrganismos e insetos. Além disso, o tegumento acaba controlando tanto as trocas gasosas entre a semente e o ambiente e o processo de embebição da mesma. Ressalta-se que a primeira etapa do processo de germinação diz respeito à embebição de água, a qual

consiste de um processo meramente físico, ou seja, independe do potencial fisiológico da semente.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos avaliar a anatomia da testa das sementes de dois genótipos de soja, bem como o potencial fisiológico das mesmas, após a exposição das sementes a diferentes períodos de envelhecimento acelerado, e armazenamento, em câmara fria e em condições de laboratório.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Armazenamento de Sementes

A velocidade do processo de perda de viabilidade após a maturidade fisiológica depende das condições ambientais pré e pós colheita, do nível de injúrias mecânicas durante a colheita e o beneficiamento e das condições de armazenamento (HARRINGTON, 1972). Para DELOUCHE (1973), a partir do ponto de maturidade fisiológica tem-se início o processo de deterioração das sementes. Atrasos na colheita após aquele ponto correspondem ao armazenamento das mesmas no campo e contribuem para acelerar o processo de deterioração. Esse armazenamento ao ar livre pode comprometer a qualidade das sementes, pois estas permanecem expostas às variações climáticas, ao ataque de insetos e de microrganismos que contribuem significativamente para a queda de qualidade, como já verificado por vários autores (VIEIRA et al., 1982; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Com o armazenamento de sementes deve-se procurar minimizar o processo de deterioração, evitando a perda de germinação e de vigor, e prevenir perdas de recursos genéticos muitas vezes importantes (DIAS e CHAMMA, 1991).

Quando a semente é colocada no armazém, a preservação da qualidade fica na dependência das condições de armazenamento e do potencial fisiológico

inicial. A qualidade da semente não pode ser melhorada durante o armazenamento, podendo apenas ser preservada quando as condições de conservação são favoráveis (POPINIGIS, 1985; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

A partir do momento que a semente atinge o ponto de maturidade fisiológica, os processos de deterioração tornam-se ativos e inicia-se a perda do seu potencial fisiológico. Com o armazenamento procura-se conservar esse potencial até que a semente seja semeada, de maneira que produza a população de plantas esperada (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Entre os fatores que afetam o potencial fisiológico das sementes, encontram-se constituição química, qualidade inicial, teor de água, condições ambientais e presença de fungos e insetos durante o armazenamento (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

A velocidade de deterioração depende da qualidade inicial da semente, de modo que lotes de sementes da mesma espécie e da mesma variedade sob as mesmas condições de armazenamento podem apresentar ampla variação quanto ao tempo que levam para perder seu potencial fisiológico. Lotes de semente com maior qualidade inicial mantêm melhor qualidade no armazenamento e oferecem maior tolerância ao processo de deterioração (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Fatores indesejáveis como condições adversas durante o desenvolvimento da semente e na fase de pré-colheita, injúrias mecânicas durante a colheita e no beneficiamento, danos térmicos e mecânicos durante a secagem, e condições precárias de manuseio, além de causarem perdas imediatas de germinação e vigor, submetem a semente à deterioração mais rápida durante o armazenamento (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

O elevado teor de água é a maior causa de perda de germinação de sementes armazenadas. Segundo HARRINGTON (1973), diferentes teores de água nas sementes criam condições diversas para o armazenamento, podendo ser assim descritas:

- 1) Teor de água superior a 45-60%: a semente germina;

- 2) Teor de água entre 18-20% e 45-60%: as velocidades respiratórias da semente e dos microrganismos são muitas elevadas. Se não houver aeração ou se esta for insuficiente, há o aquecimento da semente, o qual pode gerar temperatura suficientemente elevada para matar a mesma;
- 3) Teor de água entre 12-14% e 18-20%: pode ocorrer o desenvolvimento de microrganismos, particularmente fungos, que podem infectar a semente, ainda mais se ela estiver danificada. Fora isto, a semente também respira ativamente, resultando em uma rápida perda de germinação e de vigor;
- 4) Teor de água entre 8-9% e 12-14%: há redução ou repressão na atividade dos insetos;
- 5) Teor de água entre 4 e 8%: favorável ao armazenamento em embalagens impermeáveis.

Desta forma, quanto maior o teor de água da semente armazenada, maior o número de fatores adversos à conservação do seu potencial fisiológico.

A temperatura e a umidade relativa do ar em que as sementes são armazenadas são os principais fatores ambientais que afetam o potencial fisiológico da semente. A temperatura afeta a velocidade dos processos bioquímicos na semente, enquanto a umidade relativa do ar controla o teor de água das sementes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

O teor de água da semente é função da umidade relativa do ar e da temperatura. As sementes por serem higroscópicas, absorvem ou perdem água do ambiente, até entrarem em equilíbrio com o mesmo. No armazenamento, o aumento da temperatura provoca a aceleração das atividades respiratórias da semente e de fungos que a acompanham, bem como da atividade dos insetos (CARVALHO, 1994).

2.2. Deterioração

É de consenso entre os pesquisadores que após as sementes terem atingido o ponto de maturidade fisiológica (máximo potencial fisiológico), elas passam a apresentar um declínio na sua qualidade em função do início do processo de deterioração das mesmas (McDONALD JR., 1975; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). Este consiste em um complexo de mudanças que ocorrem com o passar do tempo, ocasionando prejuízos a sistemas e funções vitais e resultando no declínio do grau de capacidade de desempenho da semente. A velocidade do processo de deterioração é determinada principalmente pela interação entre o genótipo, o teor de água da semente e a temperatura (DELOUCHE, 2002).

Antes da morte da semente, como decorrência do envelhecimento, ocorrem várias alterações fisiológicas, bioquímicas e genéticas, tais como: danificação cromossômica (ROBERTS, 1973), perda de enzimas (WOODSTOCK, 1973), degradação do sistema respiratório (ABDUL-BAKI e ANDERSON, 1972), diminuição da produção de ATP (ANDERSON, 1977; CHING, 1973) e desorganização das membranas celulares (BERJAK e VILLIERS, 1972a; ROBERTS, 1973; ABDUL-BAKI e BAKER, 1973; SIMON, 1974; MATTHEWS, 1985; BEWLEY, 1986; GANGULI e SEN-MANDI, 1990; LIN, 1990 e BASAVARAJAPPA et al., 1991).

Os testes de vigor são usados para avaliar a qualidade das sementes, antes que seja constatado pelo teste de germinação a redução da porcentagem de plântulas normais ou elevado número de plântulas anormais ou sementes mortas. Em 1995 a ISTA (INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION) definiu o vigor de sementes como o somatório das propriedades que determinam o nível potencial de atividade e desempenho de uma semente ou de um lote de sementes durante a germinação e a emergência da plântula. Do ponto de vista fisiológico, segundo DELOUCHE (2002), o vigor e a deterioração de sementes estão ligados, são imagens refletidas no espelho, da qualidade de sementes. O vigor tem uma conotação positiva, enquanto a deterioração negativa, ou seja, estão no mesmo

sentido, mas, em direções opostas; o vigor diminui à medida que a deterioração aumenta. A deterioração corresponde ao processo de envelhecimento e morte da semente, por sua vez o vigor é o principal componente da qualidade afetado pelo processo de deterioração.

Ao se considerar que o decréscimo do potencial de armazenamento é a segunda manifestação fisiológica da deterioração, após a redução da velocidade de germinação; o teste de envelhecimento acelerado pode ser considerado como um dos mais sensíveis para a avaliação do vigor, dentre os disponíveis (DELOUCHE e BASKIN, 1973). A exposição das sementes a elevadas temperatura e umidade relativa do ar, causa deterioração das mesmas, o que contribui para o surgimento de anormalidades e da morte na germinação (McDONALD et al., 1993). MEDINA et al. (1993) verificaram deterioração do sistema de membranas celulares e lesões nos cotilédones e eixo embrionário, por meio dos testes de condutividade elétrica e de tetrazólio, respectivamente, em sementes de soja envelhecidas a 42°C por 48 horas e a umidade relativa do ar próxima de 100%. Em trigo e ervilha PURKAR et al. (1980) observaram diminuições no crescimento e na porcentagem de emergência das plântulas com o aumento da duração dos tratamentos de envelhecimento acelerado.

Além de ser eficiente para avaliar o vigor, o teste de envelhecimento acelerado acompanhou a deterioração das sementes de feijão durante o armazenamento (KRZYZANOWSKI et al., 1982). Diferenças de vigor também puderam ser detectadas por KULIK e YAKLICH (1982) entre lotes de soja. Por sua vez, MARCOS FILHO et al. (1984) verificaram para sementes de soja que as condições do teste mostraram-se muito drásticas, principalmente nos lotes com poder germinativo mais baixo, proporcionando assim resultados subestimados de vigor de alguns lotes. Eficiência semelhante ou inferior à do teste padrão de germinação foi observada usando-se o teste de envelhecimento acelerado em sementes de feijão (BOARO et al., 1984). O referido teste pode revelar diferenças não constatadas em condições ambientais favoráveis ao desempenho de sementes de soja (NOVEMBRE e MARCOS FILHO, 1991).

As principais vantagens do emprego do envelhecimento acelerado na avaliação da qualidade das sementes, em comparação ao envelhecimento natural, são as de diminuir o tempo de obtenção dos dados e mitigar as influências de variáveis fisiológicas como dormência, viabilidade e longevidade das sementes (BERJAK e VILLIERS, 1972b).

2.3. Testa da Semente de Soja

A produção de sementes de soja de elevada qualidade pode ser complementada por determinadas características da testa como: a impermeabilidade à água, a cor e o elevado teor de lignina.

O tegumento da semente é proveniente dos integumentos do óvulo, ou seja, o integumento externo ou secundina dá origem a testa enquanto o integumento interno ou primina origina o tégmen. Por vezes o integumento interno em muitas espécies de Fabaceas tende a desaparecer (ESAU, 1977 e MILLER et al., 1999). O tegumento como é o envoltório da semente exerce funções de proteção ao eixo embrionário e ao tecido de reserva contra choques e abrasões; manutenção da união entre as partes internas da semente; de impedimento à entrada de microrganismos e insetos; de controle da velocidade de hidratação e de troca gasosa entre a semente e o meio; de regulação da germinação, por intermédio da dormência (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000); além de proteção ao embrião de ruptura celular e perda de substâncias intracelulares, durante a embebição (DUKE e KAKEFUDA, 1981).

Em um corte transversal da testa de uma semente de soja, podem ser distinguidas quatro camadas a partir da sua superfície: cutícula, epiderme (células paliçádicas ou macroesclerídeos), hipoderme (células em ampulheta, ou células pilares ou osteoesclerídeos) e células parenquimatosas (SWANSON et al., 1985).

Células esclerenquimatosas, chamadas macroesclerídeos formam a camada paliçádica, a qual aparece de uma forma contínua por todo o tegumento, com exceção da região do hilo, onde duas camadas paliçádicas podem ser observadas. Neste caso a camada paliçádica mais interna provém do funículo,

enquanto a mais externa, do integumento externo do óvulo (ESAU, 1977). As células da camada paliçádica apresentam-se alongadas com uma disposição perpendicular à superfície da testa, paredes celulares grossas e perfuradas na porção superior. Principalmente nas cultivares silvestres de soja pode ser verificada uma linha clara ou linha de luz, contínua e paralela à superfície, oriunda da refração mais intensa da luz pelas paredes das células da camada paliçádica (ALEXANDROVA e ALEXANDROVA, 1935, citados por CARLSON e LERSTEN, 1987).

Algumas características da camada paliçádica, como composição química, arranjo e substâncias intercelulares, vão influenciar na absorção de água (BACIU-MICLAUS, 1970; CALERO, 1979; DUANGPATRA, 1976). A impermeabilidade do tegumento seria decorrência de impedimento da camada paliçádica à passagem de água, o que pode ser verificado com o uso de corantes especiais, como o azul de metileno (BACIU-MICLAUS, 1970).

A ocorrência de materiais hidrófobos na camada paliçádica é que determinaria as diferenças no grau de permeabilidade da testa. Em sementes duras ou impermeáveis, a presença de lipídios ocorre em grande quantidade na base das células da camada paliçádica, chegando a penetrar entre as paredes celulares, enquanto nas sementes de testa permeável a sua presença pode ser verificada por toda a camada paliçádica. Na testa de sementes de leguminosas as células imediatamente abaixo da camada paliçádica são as células em ampulheta ou hipoderme (CORNER, 1951).

A hipoderme constitui-se de uma camada de células uniforme, contínua em toda a testa, com exceção da região do hilo, onde está ausente. Ela é formada por células esclerenquimatosas com parede celular de espessura desuniforme, chamadas de osteoesclerídeos, com a presença de grandes espaços intercelulares. Esses espaços foram observados por CORNER (1951) entre as células em ampulheta em algumas leguminosas. Porquanto, AGBO et al. (1987) não observaram tais espaços em sementes de feijão. Vale ressaltar que nas proximidades do hilo os osteoesclerídeos são maiores, fazendo com que a

hipoderme apresente variação na espessura de 30-70 micrometros (DUANGPATRA, 1976).

O parênquima lacunoso é composto de 6-8 camadas de células, as quais são tangenciais à superfície da testa, possuem parede celular fina e protoplasma ausente. De acordo com ESAU (1977) na parte mais externa do parênquima as células apresentam-se grandes e alongadas, enquanto na interna elas são menores e bastante ramificadas. O parênquima está presente em toda a testa da semente, com exceção da região do hilo (hilo propriamente dito, micrópila e rafe), onde há três camadas diferentes: 1) camada mais externa: as células parenquimáticas são dispostas radialmente e com grande espaço intercelular e estão em contato com os osteoesclerídeos; 2) camada mediana de parênquima: as células apresentam-se ramificadas ao redor do hilo, são de formato achatado e tamanho reduzido possuindo pequenos feixes de vasos em espirais; 3) camada mais interna: formada por células parenquimáticas mais ou menos típicas (DZIKOWSKI, 1936, citado por CARLSON e LERSTEN, 1987).

A espessura da testa de uma semente de soja varia entre 70-100 micrometros considerando-se as quatro camadas em conjunto, sendo que existe variação entre cultivares. Ressalta-se que esta característica física é constante dentro de cada cultivar e é controlada geneticamente (CAVINESS e SIMPSON, 1974). Há variabilidade fenotípica para espessura da camada de células entre cultivares de feijão (AGBO et al., 1987), como também diferenças entre genótipos de feijão na espessura das camadas de células dos macroesclerídeos, osteoesclerídeos e parênquima (KORBAN et al., 1981).

Segundo AGBO et al. (1987) em sementes de feijão a espessura da camada paliçádica da testa regularia o movimento da água para o interior das mesmas; pois no genótipo que apresentou a maior espessura, a absorção de água foi menor durante o processo de embebição; isto faria com que a hidratação lenta da testa provocasse a hidratação lenta das estruturas cotiledonares.

O alto grau de impermeabilidade de sementes duras em *Phaseolus* seria decorrência das características da camada paliçádica (ESAU, 1977). A partir deste apontamento, AGBO et al. (1987) sugeriram que as células paliçádicas são menos

permeáveis ao movimento da água do que as células parenquimatosas (subepidérmicas) por estas últimas não possuírem esclerídeos. Assim, a espessura das camadas de células (paliçádica e ampulheta) poderia estar relacionada a embebição da água dentro de um contexto físico. Com o objetivo de atingir e hidratar os cotilédones, a água teria uma distância bem maior a percorrer em uma camada espessa do que em uma camada fina de células.

Alguns autores consideram que a água atinge o embrião de sementes de soja, passando principalmente através da testa (NOODÉN et al., 1985; CHACHALIS e SMITH, 2000); enquanto McDONALD et al. (1988) consideraram que o principal caminho percorrido pela água é a região hilar. Em *Phaseolus lunatus* (KORBAN et al., 1981) e *Phaseolus vulgaris* (AGBO et al, 1987), a região hilar (hilo propriamente dito, rafe e micrópila) também foi considerada a principal via de acesso da água para o interior da semente.

A presença ou não de poros e sua quantidade, forma e tamanho na superfície da testa também é controlada geneticamente, portanto é uma característica que varia entre cultivares. Os poros parecem estar relacionados com a absorção de água, sendo que em sementes duras ou eles estão ausentes ou apresentam-se em quantidade bastante reduzida (CALERO, 1979). Em algumas cultivares os poros atravessam a camada paliçádica da testa (CALERO et al., 1981; WOLF et al., 1981). Com o uso da microscopia eletrônica de varredura, foram encontrados poros na testa de sementes de soja (WOLF e BAKER, 1972; WOLF et al., 1981; YAKLICK et al, 1984; HARRIS, 1987), o que levou os pesquisadores a considerarem uma possível relação entre a presença ou não de poros e a impermeabilidade da testa.

Como WOLF e BAKER (1972) e WOLF et al. (1981) encontraram pequenos poros tanto nas cultivares de sementes duras como normais, eles concluíram que os poros não afetariam a permeabilidade do tegumento. Por sua vez, HARRIS (1987) trabalhando com variedades de soja de sementes duras e normais verificou a presença de poros apenas nas sementes das variedades permeáveis. Nas sementes das variedades duras ele notou a linha de luz mais proeminente. Assim, concluiu que três fatores estruturais poderiam estar relacionados com a

impermeabilidade da testa: poros, depósitos fenólicos e a linha de luz. O mesmo autor menciona que a presença de compostos fenólicos nas variedades duras poderia esclarecer o porquê delas serem mais resistentes ao ataque fúngico e possuírem uma reduzida taxa de deterioração no campo. De acordo com DUANGPATRA (1976) a camada de suberina no hilo poderia ser outro fator.

Em sementes de soja (SAIO, 1976) e ervilha (WERKER et al., 1979), a impermeabilidade foi atribuída a cutículas espessas, a linha de luz, camadas pécticas duras, substâncias fenólicas (quinonas) na camada paliádica, conteúdo de cálcio, espessura da testa e o tamanho da abertura da micrópila. YAKLICK et al. (1984) ao estudarem a testa permeável e impermeável de sementes de soja, consideraram as seguintes hipóteses para explicar a impermeabilidade da testa: 1) a superfície de uma testa impermeável contém cutícula ou um depósito de cutina e cera e 2) a fissura hilar e a micrópila estão fechadas ou cobertas com cutina e ou cera. O depósito de cutina e, ou, cera na testa é proveniente ou da própria testa ou do endocarpo da parede da vagem.

Uma das principais causas do decréscimo do potencial fisiológico da semente é a absorção de água ainda no campo, após a maturidade fisiológica antes da colheita (VIEIRA et al., 1982). Isto despertou o interesse pela utilização de sementes que possuam testa com certo grau de dureza (GIGLIOLI e FRANÇA NETO, 1982; PESKE e PEREIRA, 1983; HARTWIG e POTTS, 1987), ou seja, com testa impermeável ou semipermeável à água. As vantagens dessa característica seriam: redução das flutuações de umidade nas sementes, em virtude das oscilações da umidade relativa do ar nos estádios de maturação e pré-colheita (POTTS et al., 1978; HARTWIG e POTTS, 1987); reduzida incidência de patógenos transmitidos por sementes (MIRANDA, 1977; HILL et al., 1985 e BRACCINI et al., 1994); maior tolerância à deterioração em campo, mesmo em condições extremas de estresse, como altas temperaturas associadas com baixa disponibilidade hídrica durante a fase de enchimento das sementes (GIGLIOLI e FRANÇA NETO, 1982); maior resistência aos danos mecânicos durante a colheita (FRANÇA NETO e POTTS, 1979; FRANÇA NETO et al., 1983); menor incidência de danos provocados por percevejos (FRANÇA Neto et al., 1983); e maior

potencial de armazenamento (POTTS et al., 1978; DASSOU e KUENEMAN, 1984).

Para que o melhoramento genético seja usado para alterar a permeabilidade da testa das sementes de soja, deve-se ter em mente que esta característica está associada a diversos fatores, tais como: estruturas presentes na testa (hilo, estrofiolo, micrópila), porosidade, cor e cerosidade (SOUZA e MARCOS FILHO, 2001).

Ressalta-se, porém que as sementes com testa impermeável apresentam limitações, para que o melhoramento genético possa utilizar esta característica com o intuito de melhorar a qualidade das sementes de soja. Como esta característica é governada por três genes maiores (KILEN e HARTWIG, 1978), a sua expressão poderá sofrer interferência de vários fatores ambientais: a ocorrência de períodos de seca durante o estágio de enchimento de grãos (HILL et al., 1986); as condições climáticas durante as fases de maturação e colheita (MINOR e PASCHAL, 1982; HARTWIG e POTTS, 1987) e a temperatura de secagem das sementes após a colheita (POTTS et al., 1978). Ainda, corre-se o risco do aparecimento de um número significativo de plantas voluntárias em cultivos posteriores e, possivelmente, problemas de estande desuniforme de plantas (POTTS et al., 1978) e a provável necessidade da escarificação das sementes de lotes com elevados índices de impermeabilidade (FRANÇA NETO, 1984).

De acordo com WOODSTOCK (1988) as sementes impermeáveis ou duras são provenientes da organização compactada de microfibrilas de celulose na parede celular. As paredes celulares seriam formadas de grandes quantidades de polissacarídeos como a celulose e a hemicelulose e de polímeros fenilpropanóides, ou seja, lignina (LOWRY et al., 1994). Substâncias impermeáveis a água tais como ceras, suberina, tanino ou lignina podem ser encontradas na parede celular (McDOUGALL et al., 1996).

Para LEWIS e YAMAMOTO (1990) a lignina é um polímero natural, e está presente apenas na testa.

BRACCINI et al. (1994) verificaram que a cultivar de soja Doko, apesar de não ser impermeável à água, apresentou qualidade de sementes semelhante às cultivares portadoras dessa característica. A explicação é que a cultivar Doko apresenta elevado teor de lignina na testa (ALVAREZ et al., 1997). Por sua vez, TAVARES et al. (1987) verificaram que os maiores valores de lignina encontravam-se nas linhagens de soja com testa impermeável. Também, PANOBIANCO et al. (1999) verificaram variações no teor de lignina da testa entre genótipos de soja.

CARBONELL e KRZYZANOWSKI (1995) ao estudarem 12 cultivares de soja quanto ao teor de lignina na testa, encontraram uma forte correlação entre o teor de lignina e a resistência ao dano mecânico. BAY et al. (1995), após avaliação da composição química da testa de sementes de feijão-vagem, concluíram que a testa apresenta maior resistência quanto maior for o teor de lignina, oferecendo, portanto uma maior proteção ao embrião. Dentro deste enfoque, SRISUMA et al. (1991), ao estudarem a testa de sementes de feijão branco, puderam verificar que a rigidez da testa é decorrência do teor de lignina e celulose da parede celular.

Atualmente os programas de melhoramento genético de soja visam a seleção de genótipos com elevados teores de lignina ($> 5,0\%$), por apresentarem boa resistência ao impacto mecânico, em relação ao desenvolvimento de cultivares com testa impermeável (ALVAREZ et al., 1997). Por sua vez, não está devidamente esclarecido se existe ou não uma correlação entre o teor de lignina e a espessura da testa (AGRAWAL e MENON, 1974; TAVARES et al., 1987).

Ressalta-se que os estudos voltados para incorporar o gene da característica da testa da semente responsável pelo controle de absorção de água visam unicamente a produção de sementes de elevado potencial fisiológico, o que seria uma consequência da redução da deterioração no campo e dos danos mecânicos na colheita, assim como de um potencial de armazenamento prolongado (POTTS et al., 1978).

Justifica-se o estudo do comportamento das camadas de células que compõem a testa das sementes de soja, quando estas são expostas a diferentes

condições de temperatura e umidade relativa do ar, pelo fato da testa apresentar um papel fundamental na conservação do potencial fisiológico das sementes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Análise de Sementes (LAS) do Departamento de Produção Vegetal e de Microscopia Eletrônica de Varredura da UNESP, Campus de Jaboticabal. Foram utilizadas as cultivares de soja Monsoy 8400 e 8411, safra 2001. Dois experimentos foram iniciados em maio de 2002.

3.1. Potencial Fisiológico Inicial

Após a recepção, as sementes foram expurgadas, homogeneizadas, acondicionadas em embalagem porosa e armazenadas em câmara fria (10°C). Em abril de 2002, foram tiradas amostras para a realização das seguintes determinações preliminares: teor de água, germinação (tendo com substrato tanto papel como areia), vigor (testes de envelhecimento acelerado, de frio, de condutividade elétrica, de comprimento e de matéria seca da plântula) e emergência de plântula.

a) Teor de água: foi avaliado pelo método da estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 24 horas (BRASIL, 1992). Os resultados, calculados por diferença de peso com base no peso úmido das sementes, foram indicados em porcentagem.

b) Germinação: foi realizada com quatro repetições de 50 sementes, à temperatura de 25°C, utilizando substrato de papel toalha tipo Germitest, em forma de rolo, umedecido na proporção de três vezes o peso do papel. As contagens foram feitas cinco e oito dias após a semeadura, computando-se a porcentagem final de plântulas normais (BRASIL, 1992).

Também, foi avaliada a germinação em substrato areia esterilizada, onde quatro repetições de 50 sementes para cada cultivar, foram semeadas em caixas plásticas (26 x 16 x 8,5 cm). Posteriormente, as sementes foram cobertas com 2 a 3cm de substrato, sendo que a irrigação foi em função do ajuste da umidade do substrato para 70% da sua capacidade de retenção de água. As caixas foram mantidas à temperatura ambiente (25⁰C a 30⁰C) por dez dias, quando então foi realizada a contagem do número de plântulas normais.

c) Envelhecimento acelerado: uma camada única de sementes, foi disposta em caixas plásticas (11cm x 11cm x 5cm), sobre uma tela suspensa, com 40mL de água destilada no seu interior, as sementes foram mantidas a 41°C e 100% U.R. do ar, durante 48 horas (MARCOS FILHO, 1994). Ao término do período de envelhecimento foi determinado o teor de água das sementes e, a seguir, foi realizado o teste padrão de germinação, com quatro repetições de 50 sementes. A avaliação foi feita cinco dias após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais.

d) Teste frio: quatro repetições de 50 sementes por cultivar, foram semeadas em uma mistura de solo e areia na proporção de 2:1, respectivamente, em caixas plásticas (26 x 16 x 8,5cm). As sementes foram cobertas com 2 a 3cm de substrato, sendo que a irrigação foi em função do ajuste da umidade do substrato para 70% da sua capacidade de retenção de água. Após os recipientes serem tampados, foram postos em câmara fria à temperatura de 10⁰C por sete dias. Decorrido este intervalo de tempo as caixas foram retiradas da câmara e mantidas

à temperatura ambiente (25°C a 30°C) por cinco dias quando, então, foi realizada a contagem do número de plântulas normais (BARROS et al., 1999).

e) Condutividade elétrica: foi conduzida com a utilização de quatro repetições de 50 sementes. Após a pesagem, as sementes foram imersas em 75mL de água destilada para permanência em germinador, durante 24 horas, à temperatura de 25°C. Ao término do período, a condutividade elétrica da solução foi determinada em condutímetro DIGIMED CD-21, sendo os valores expressos em $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ de sementes (HAMPTON e TEKRONY, 1995; VIEIRA e KRZYZANOWSKI, 1999).

f) Comprimento da plântula: foi realizado em rolo de papel, conforme indicado para o teste de germinação, empregando quatro repetições de 10 sementes. A semeadura foi efetuada sobre uma linha traçada no terço superior do papel, no sentido transversal. Os rolos, embalados em sacos plásticos escuros, foram postos verticalmente no germinador (NAKAGAWA, 1999) e mantidos por cinco dias sob 25°C. Decorrido esse período, as plântulas normais foram medidas com auxílio de régua graduada. O comprimento médio da plântula foi calculado pelo quociente entre a soma das medidas tomadas em cada repetição e o número de plântulas normais.

g) Matéria seca da plântula: esse teste foi instalado de modo similar ao adotado para a determinação do comprimento das plântulas. Após cinco dias de permanência no germinador, os cotilédones foram eliminados previamente à determinação da matéria seca das plântulas normais. Para tanto, a parte restante das plântulas foi levada, no interior de sacos de papel, para estufa com circulação de ar sob 80°C durante 24 horas (NAKAGAWA, 1999).

h) Emergência das plântulas em campo: foi realizada com quatro repetições de 50 sementes, por cultivar. A semeadura foi realizada nos meses de abril, maio, agosto e novembro de 2002, em campo mantido sob irrigação, em linhas de 2,0m

espaçadas de 0,3m entre si. A avaliação foi realizada aos 21 dias após a semeadura (NAKAGAWA, 1999).

i) Teor de lignina da testa: para facilitar a separação da testa do embrião das sementes de soja, as sementes foram imersas em água de torneira, por aproximadamente 12 horas. Após a remoção das testas, estas foram colocadas para secar em estufa previamente regulada à temperatura de 55⁰C, por 48 horas. Posteriormente, as testas foram trituradas em moinho de bola, com o objetivo de obter um pó bastante fino.

A presença de lignina foi quantificada em duas repetições de 0,5g de testa para cada cultivar, pelo método do permanganato de potássio (VAN SOEST e WINE, 1968).

3.2. Experimento I: Anatomia da testa de sementes de soja submetidas a condições de envelhecimento acelerado

Os tratamentos foram obtidos pela colocação das sementes de cada genótipo, a condições semelhantes às do teste de envelhecimento acelerado, 42⁰C e 100% U.R. do ar por períodos de zero, 24, 48, 72 e 96 horas. As sementes foram dispostas em caixas plásticas (11cm x 11cm x 5cm), sobre uma tela suspensa, com 40mL de água destilada no seu interior.

Ao término dos períodos de envelhecimento, foi avaliado o teor de água das sementes pelo método da estufa a 105 ± 3⁰C por 24 horas (BRASIL, 1992). Posteriormente, foi conduzido o teste de germinação. As sementes remanescentes foram secas em estufa com circulação de ar forçado, a 28⁰C, até que atingissem teores de água entre 9-11%, antes da realização das eletromicrografias, no microscópio eletrônico de varredura, marca JEOL, modelo JFM 5410.

Em um corte transversal da testa de uma semente de soja, podem ser distinguidas quatro camadas a partir da sua superfície: cutícula, epiderme (células

paliádicas ou macroesclerídeos), hipoderme (células em ampulheta, ou células pilares ou osteoesclerídeos) e células parenquimatosas (SWANSON et al., 1985).

Para a realização das eletromicrografias da testa, no microscópio eletrônico de varredura, foram feitos cortes transversais das sementes, com lâmina de aço, sendo que posteriormente o material a ser eletromicrografado foi metalizado com ouro paládio, sem prévia fixação e desidratação, por apresentar-se seco. O corte transversal foi feito na região mediana da semente, circundando a região do hilo. Foram observadas as camadas das células paliádicas (macroesclerídeos), ampulhetas (osteoesclerídeos) e parenquimáticas, independente de sua localização na testa, ou seja, se estavam próximas ou não do hilo. Para cada período de envelhecimento foram eletromicrografadas 10 sementes, sendo que de cada semente foi obtido um corte da seção transversal. Para cada uma das camadas de cada semente eletromicrografada, foram feitas cinco medições, usando paquímetro digital, registrando os valores em mm, sendo posteriormente transformados em μm .

3.3. Experimento II: Potencial fisiológico e anatomia da testa de sementes de soja, armazenadas em câmara fria e em condições ambientais do laboratório de sementes

Os tratamentos consistiram de diferentes períodos de armazenamento (zero, 3 e 6 meses) em câmara fria e em condições ambientais de laboratório. Em cada ambiente foi colocado um termohigrógrafo para acompanhar as possíveis variações de temperatura e umidade relativa do ar. Após o término dos períodos de armazenamento as sementes foram submetidas às determinações descritas no item 3.1, com exceção da avaliação do teor de lignina. As eletromicrografias de varredura das camadas da testa foram realizadas conforme descrito no item 3.2.

3.4. Análise dos Dados

Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado para o experimento 1, para cada cultivar, tanto para a germinação como para a espessura das camadas. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os valores de germinação foram transformados em $\text{arc sen}\sqrt{x/100}$.

No experimento 2, para cada cultivar, usou-se o delineamento em blocos ao acaso e os tratamentos foram dispostos em parcelas subdivididas, sendo as condições de armazenamento consideradas como parcelas e os períodos de armazenamento como subparcelas. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os valores de germinação, vigor (testes de envelhecimento acelerado, de frio) e a emergência de plântulas em campo foram transformados em $\text{arc sen}\sqrt{x/100}$. Com o propósito de averiguar a espessura das camadas paliádica, hipodérmica e parenquimática, e a espessura conjunta das três camadas, em função das condições ambientais e dos períodos de armazenamento, realizou-se no experimento 2 para cada cultivar, uma análise estatística igual a empregada para avaliar o potencial fisiológico, utilizando-se dez sementes por tratamento.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são mostrados os resultados da avaliação do potencial fisiológico e dos teores de água e de lignina, das sementes de soja das cultivares Monsoy 8400 e 8411. Verifica-se que os lotes usados foram de elevado potencial fisiológico. Os teores de lignina acima de 5% mostram que os genótipos utilizados apresentam boa resistência ao dano mecânico, conforme considerações de ALVAREZ et al. (1997).

Tabela 1. Potencial fisiológico e teores de água e de lignina iniciais de sementes de soja, cultivares Monsoy 8400 e 8411.

Determinações	Cultivares	
	Monsoy 8400	Monsoy 8411
Teor de água (%)	9,9	10,4
Germinação em papel (%)	94,0	93,0
Germinação em areia (%)	86,5	87,0
Envelhecimento acelerado (%)	88,5	85,5
Condutividade elétrica ($\text{mS cm}^{-1}\text{g}^{-1}$)	59,9	58,2
Emergência em campo (%)	93,0	92,5
Teste frio (%)	82,5	75,5
Comprimento de plântula (mm)	232,0	241,5
Matéria seca (mg)	33,1	36,1
Teor de lignina da testa (%)	8,19	7,24

4.1. Experimento I: Anatomia da testa de sementes de soja submetidas a condições de envelhecimento acelerado

Na Tabela 2 são apresentados o teor de água das sementes das duas cultivares, logo após os períodos de envelhecimento acelerado. Observa-se de maneira geral, que para cada período de envelhecimento acelerado, os valores de teor de água entre as cultivares foram próximos.

Tabela 2. Teor de água (%) de sementes de soja, cultivares Monsoy 8400 e 8411, após os diferentes períodos de envelhecimento, a 42°C.

Períodos de envelhecimento (horas)	Cultivares	
	Monsoy 8400	Monsoy 8411
Zero	9,9	10,4
24	21,3	21,2
48	27,0	26,5
72	31,3	30,1
96	35,0	34,1

A germinação das sementes de soja (Tabela 3), após serem expostas a diferentes períodos de envelhecimento acelerado, a 42°C, indicou que o potencial fisiológico das duas cultivares, de modo geral, declinou com o aumento dos períodos de envelhecimento.

Para as duas cultivares, nos períodos de 48, 72 e 96 horas de envelhecimento, foi verificada redução da espessura das camadas da testa das sementes de soja (Tabelas 4, 5, 6 e 7). A redução da espessura das camadas sugere a ocorrência de um colapso das células que compõem tais camadas, o que pode estar relacionado com a redução do potencial germinativo (Tabela 3), ao se considerar o referido colapso como um dano físico às células, e consequentemente a testa.

Tabela 3. Germinação (%) de sementes de soja das cultivares Monsoy 8400 e 8411, envelhecidas por diferentes períodos, a 42⁰C.

Períodos de envelhecimento (horas)	Cultivares	
	Monsoy 8400	Monsoy 8411
zero	86,0a	85,5a
24	79,5ab	78,5ab
48	75,5ab	69,0b
72	70,5bc	51,5c
96	55,5c	30,5d
C.V (%)	8,24	8,42

Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 4. Espessura (µm) da camada paliçádica da testa de sementes de soja, cultivares Monsoy 8400 e 8411, envelhecidas por diferentes períodos, a 42⁰C.

Períodos de envelhecimento (horas)	Cultivares	
	Monsoy 8400	Monsoy 8411
zero	55,00	49,69a
24	53,35a	50,27a
48	42,42b	43,42ab
72	40,35b	39,19b
96	40,62b	37,27b
C.V (%)	14,27	13,78

Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 5. Espessura (μm) da camada hipodérmica da testa de sementes de soja, cultivares Monsoy 8400 e 8411, envelhecidas por diferentes períodos, a 42°C.

Períodos de envelhecimento (horas)	Cultivares	
	Monsoy 8400	Monsoy 8411
zero	49,81a	44,46a
24	59,04a	53,77a
48	26,16b	15,04b
72	15,04bc	7,77b
96	12,73c	7,62b
C.V (%)	31,39	44,93

Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 6. Espessura (μm) da camada parenquimática da testa de sementes de soja, cultivares Monsoy 8400 e 8411, envelhecidas por diferentes períodos, a 42°C.

Períodos de envelhecimento (horas)	Cultivares	
	Monsoy 8400	Monsoy 8411
zero	25,65ab	25,31ab
24	30,77a	28,85ab
48	21,39b	22,35abc
72	18,08b	19,23bc
96	18,58b	17,00c
C.V (%)	26,19	26,12

Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 7. Espessura (μm) total do conjunto das camadas paliçádica, hipodérmica e parenquimática, da testa de sementes de soja, cultivares Monsoy 8400 e 8411, envelhecidas por diferentes períodos, a 42^oC.

Períodos de envelhecimento (horas)	Cultivares	
	Monsoy 8400	Monsoy 8411
zero	130,50a	119,46a
24	143,12a	132,89a
48	90,00b	80,81b
72	73,46b	66,19b
96	71,92b	61,89b
C.V (%)	18,43	20,76

Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

De acordo com CAVINESS e SIMPSON (1974) a espessura da testa de uma semente de soja, varia entre 70-100 micrometros ao se considerar o conjunto das quatro camadas de células (cutícula, paliçádica, hipodérmica e parênquima lacunoso), sendo que existe variação entre cultivares; dentro de cada cultivar, essa característica física é constante e controlada geneticamente. Entretanto, na Tabela 7 a espessura total do conjunto das camadas paliçádica, hipodérmica e parenquimática, das cultivares Monsoy 8411 e 8400, foi de 119,46 e 130,5 micrometros, respectivamente.

As eletromicrografias de varredura de cortes transversais da testa das sementes de soja das cultivares Monsoy 8400 e 8411, mostraram as células estruturais da testa (Figuras 1 e 6). Podem ser observadas três camadas de células visíveis. As células de aparência colunar são as células paliçádicas. Não foram verificados espaços entre as células nessa camada. A espessura média da camada de células paliçádicas, mensurada em dez sementes foi, próximo, de 55,00 μm e 49,69 μm para as cultivares Monsoy 8400 e Monsoy 8411, respectivamente. A camada hipodérmica, que contém células em ampulheta ou osteoesclerídeos, é mais fina do que a camada paliçádica; assim, a espessura

média dessa camada foi de 49,81µm e 44,46µm, para as cultivares Monsoy 8400 e Monsoy 8411, respectivamente. Os cortes das sementes das duas cultivares de soja, como indicado pelas eletromicrografias de varredura, apresentaram estruturas altamente organizadas na testa. O mesmo pode ser verificado em sementes de outras leguminosas (SEFA-DEDEH e STANLEY, 1979; AGBO et al., 1987). Abaixo dos osteoesclerídeos estão as células do parênquima lacunoso, as quais formam uma camada celular amorfa.

Nas Figuras 1, 2, 3, 4 e 5, são mostradas a anatomia da testa de sementes de soja, da cultivar Monsoy 8400, não envelhecidas e envelhecidas por períodos de 24, 48, 72 e 96 horas, respectivamente, a 42°C. Cada eletromicrografia de varredura presente nas figuras, diz respeito à um corte transversal da testa de uma semente. O critério de seleção para a escolha das eletromicrografias em cada figura, baseou-se na escolha de cortes da testa que representassem o que ocorreu nas dez sementes avaliadas por tratamento, em termos de alteração na espessura da camada hipodérmica. Pode-se observar que, principalmente, para os períodos de envelhecimento de 72 e 96 horas, as células da camada hipodérmica apresentaram um aspecto de colapso, sendo este acentuado para o período de 96 horas.

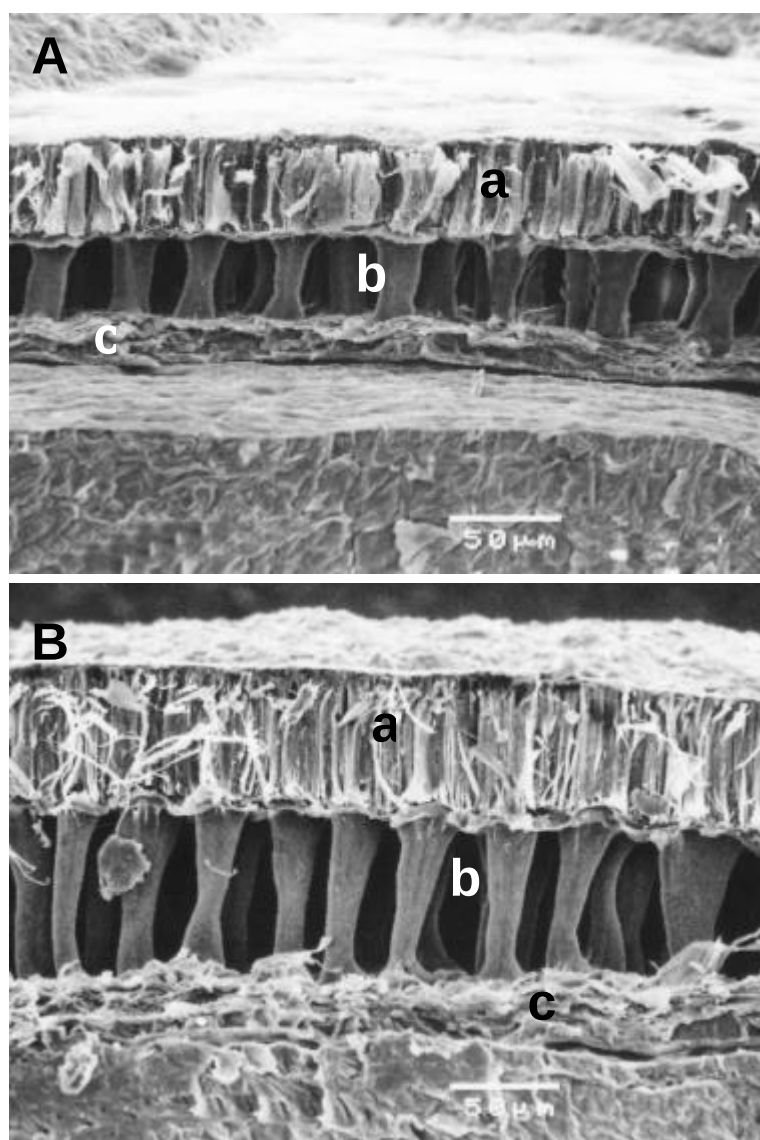


Figura 1. Eletromicrografias de varredura da testa de duas sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, não envelhecidas, exibindo alteração de espessura na camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica de espessura menor. B) Camada hipodérmica de espessura maior. (a= camada paliçádica; b= hipoderme; c = parênquima lacunoso).

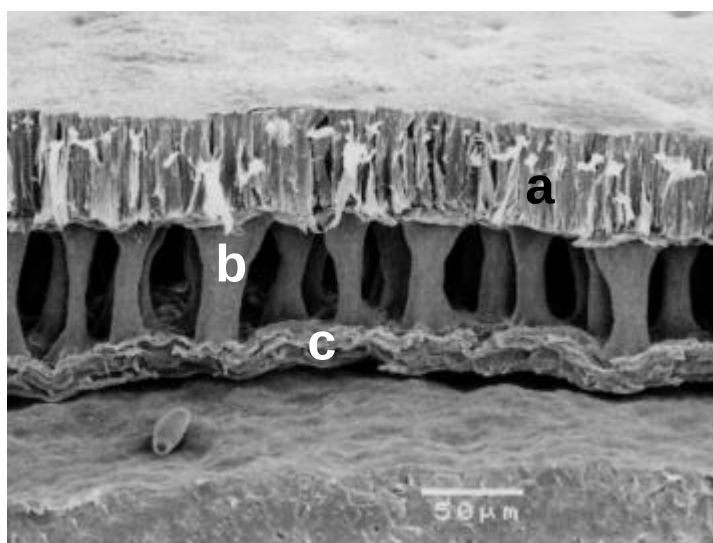


Figura 2. Eletromicrografia de varredura da testa de semente de soja, cultivar Monsoy 8400, envelhecida por 24 horas, à 42°C (a= camada paliçada; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

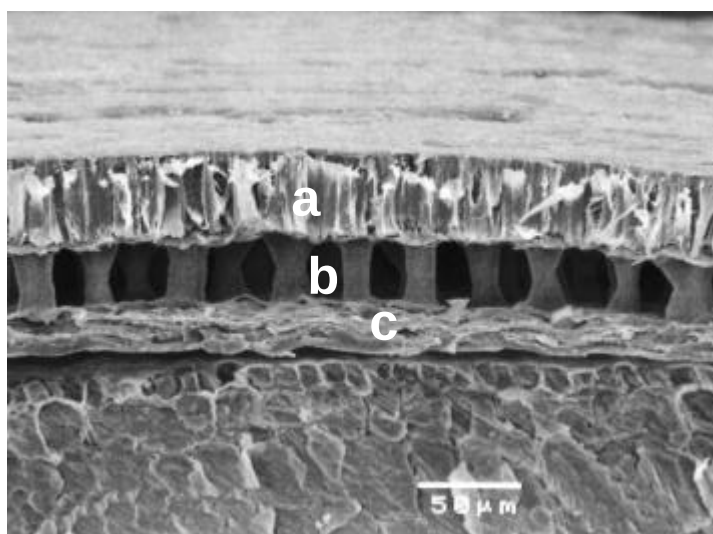


Figura 3. Eletromicrografia de varredura da testa de semente de soja, cultivar Monsoy 8400, envelhecida por 48 horas, à 42°C (a= camada paliçada; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

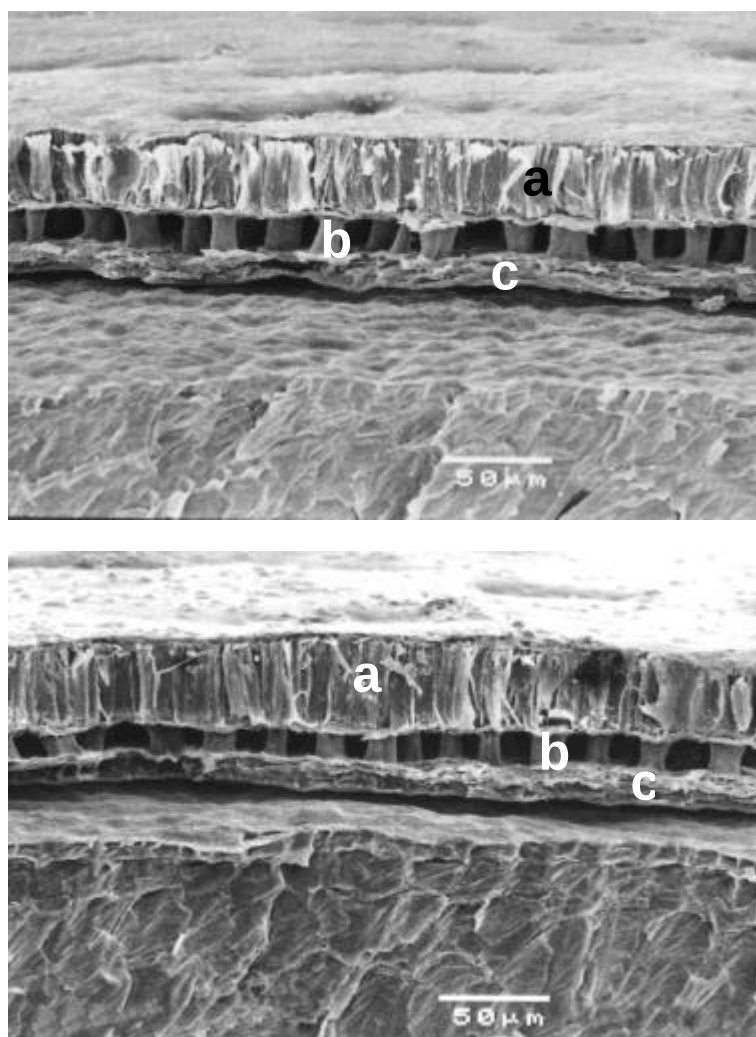


Figura 4. Eletromicrografias de varredura da testa de duas sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, envelhecidas por 72 horas, a 42° C, exibindo entre si pouca alteração no grau de colapso da camada hipodérmica. (a= camada paliçádica; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

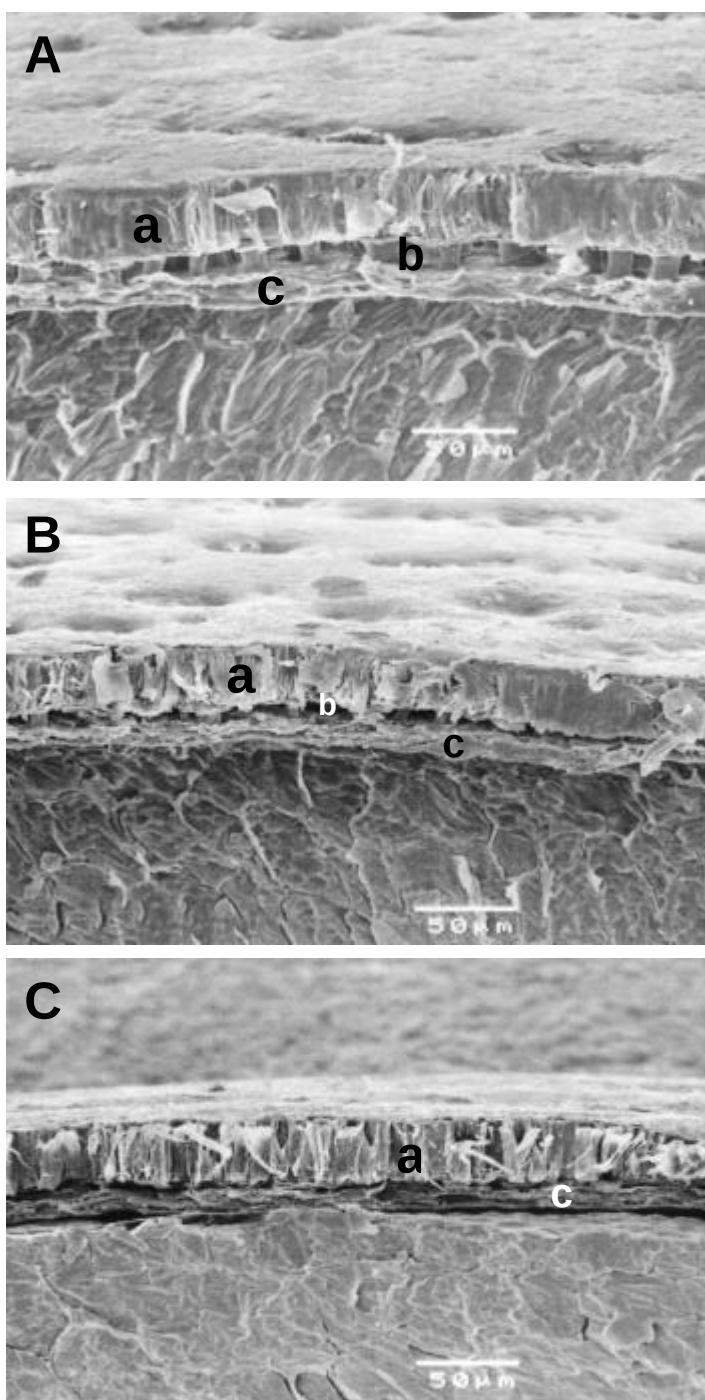


Figura 5. Eletromicrografias de varredura da testa de três sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, envelhecidas por 96 horas, a 42°C, exibindo entre si alteração no grau de colapso da camada hipodérmica. A e B) Camada hipodérmica com reduzida espessura. C) Camada hipodérmica quase ausente (a= camada paliádica; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

Nas Figuras 6, 7, 8, 9, e 10 que retratam os cortes transversais da testa de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, não envelhecidas e envelhecidas por períodos de 24, 48, 72 e 96 horas, respectivamente, a 42⁰C, ficou evidenciada a semelhança das células das camadas da testa com as das sementes da cultivar Monsoy 8400, entretanto, no período de 48 horas de envelhecimento é mais notório o colapso da hipoderme nas sementes da cultivar Monsoy 8411 do que na da cultivar Monsoy 8400. Na testa das sementes envelhecidas por 72 e 96 horas da cultivar Monsoy 8411, a hipoderme parece ter sido mais susceptível a entrar em colapso do que a das sementes da cultivar Monsoy 8400, envelhecidas durante os mesmos períodos.

A alteração anatômica da camada hipodérmica das sementes envelhecidas (Tabela 5), pode de alguma forma estar relacionada com a redução do potencial fisiológico (Tabela 3), pois o colapso das células da hipoderme pode ser visto como um dano físico na testa.

Alguns pesquisadores (SIMON e RAJA HARUN, 1972; McKERSIE e STINSON, 1980; BEWLEY e BLACK, 1985; HAMPTON e TEKRONY, 1995) consideram que na fase inicial do processo de embebição, a capacidade da semente de reorganizar suas membranas, assim como de reparar certos danos, físicos e/ou biológicos, pode vir a influenciar de modo acentuado a quantidade de lixiviados por ela liberados. É possível também, que a habilidade das sementes de repararem danos físicos e/ou biológicos, na fase inicial do processo de embebição, interfira no potencial de germinação das sementes.

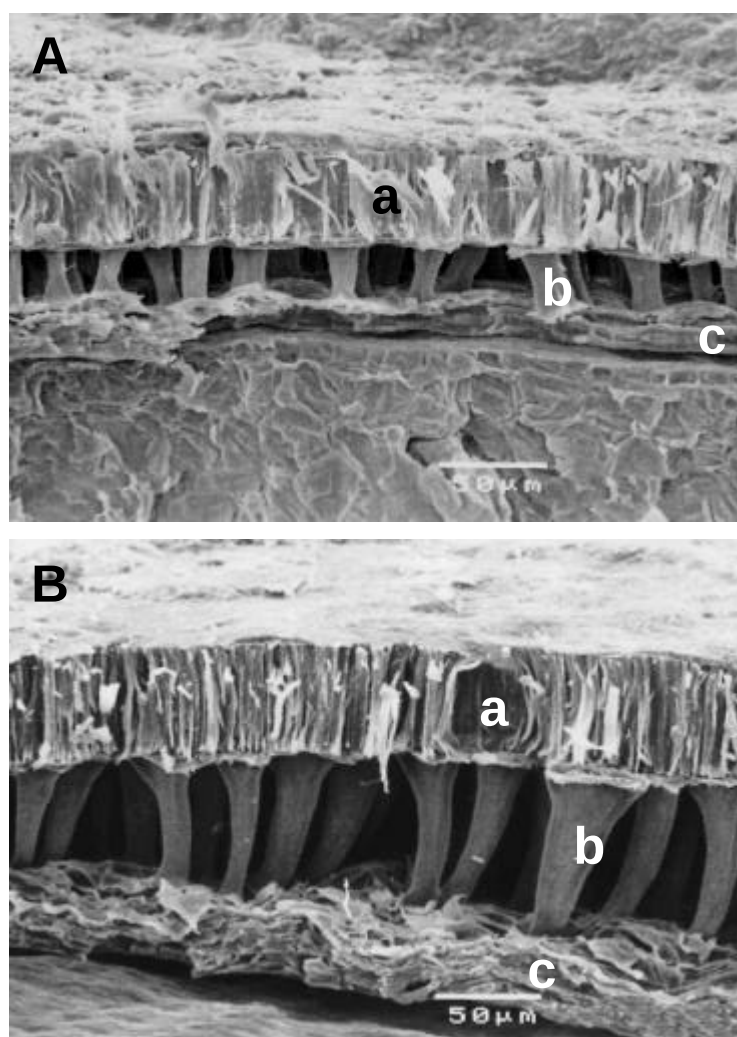


Figura 6. Eletromicrografias de varredura da testa de duas sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, não envelhecidas, exibindo entre si alteração na espessura da camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica de espessura menor. B) Camada hipodérmica de espessura maior. (a= camada paliçádica; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

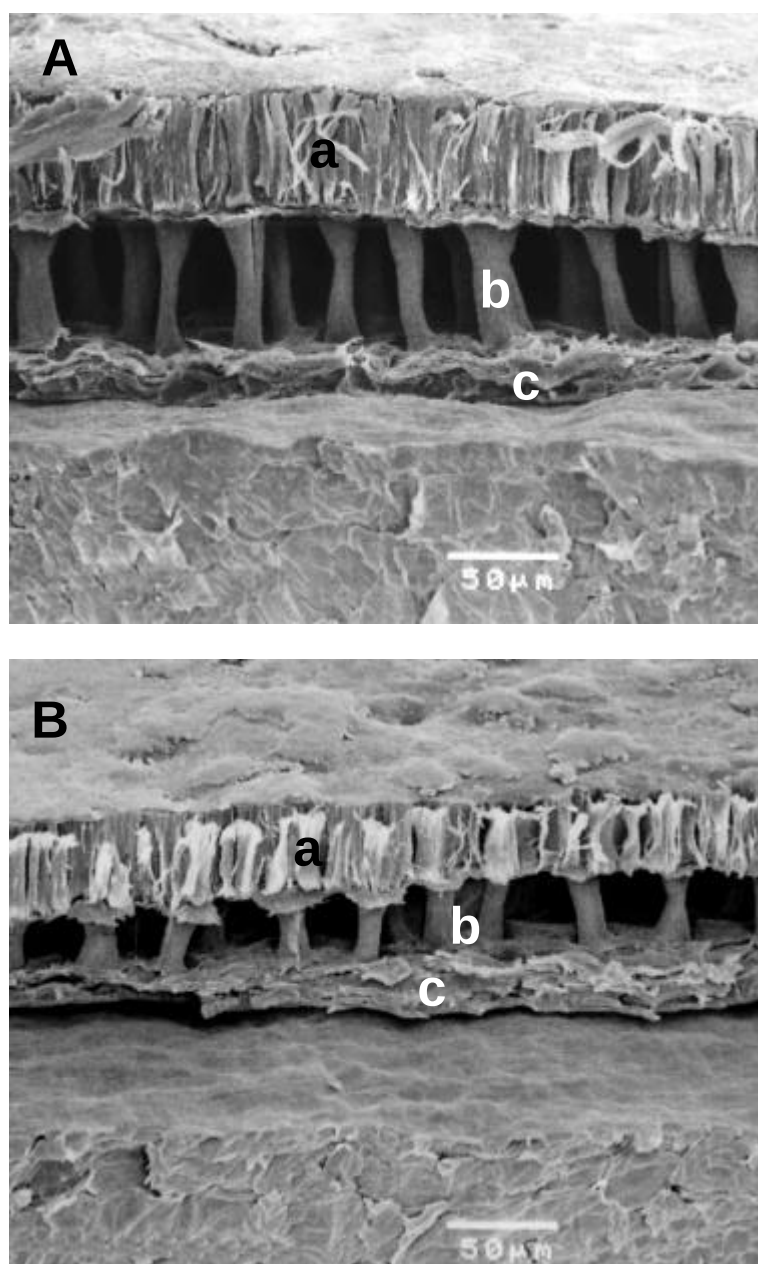


Figura 7. Eletromicrografias de varredura da testa de duas sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, envelhecidas por 24 horas, a 42°C, exibindo entre si alteração na espessura da camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica de espessura maior. B) Camada hipodérmica de espessura menor (a= camada paliádica; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

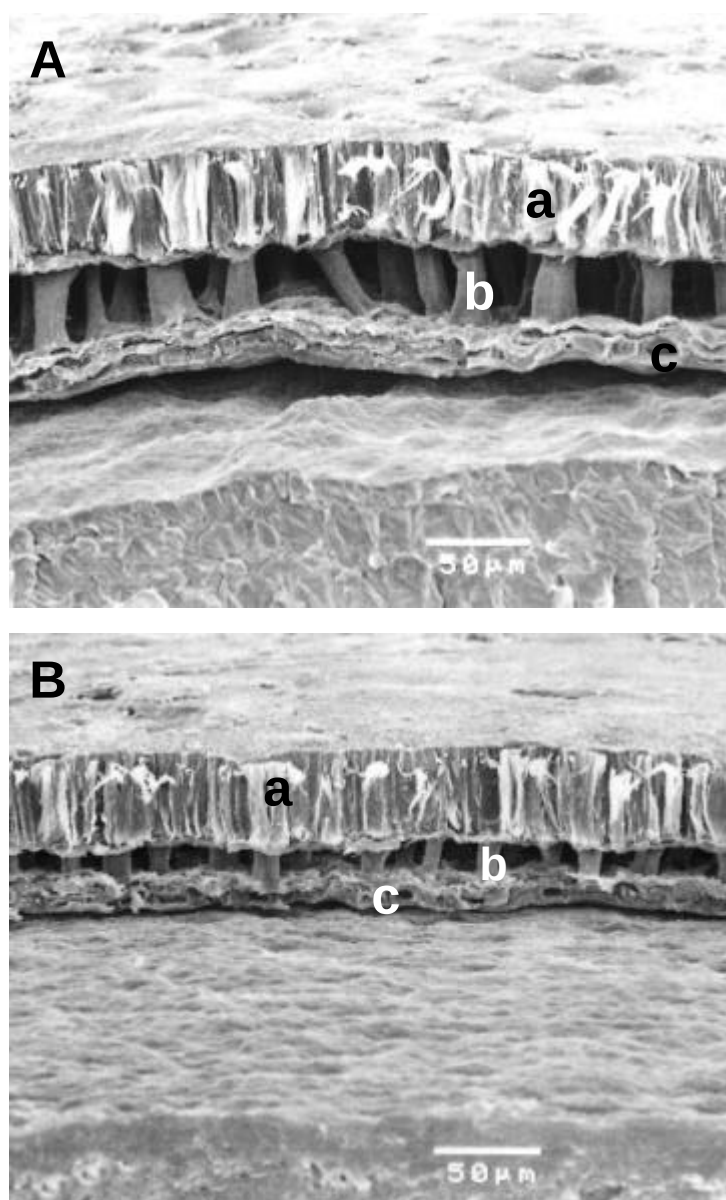


Figura 8. Eletromicrografias de varredura da testa de duas sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, envelhecidas por 48 horas, a 42°C, exibindo entre si alteração na espessura da camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica de espessura maior. B) Camada hipodérmica de espessura menor, indicando colapso (a= camada paliçádica; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

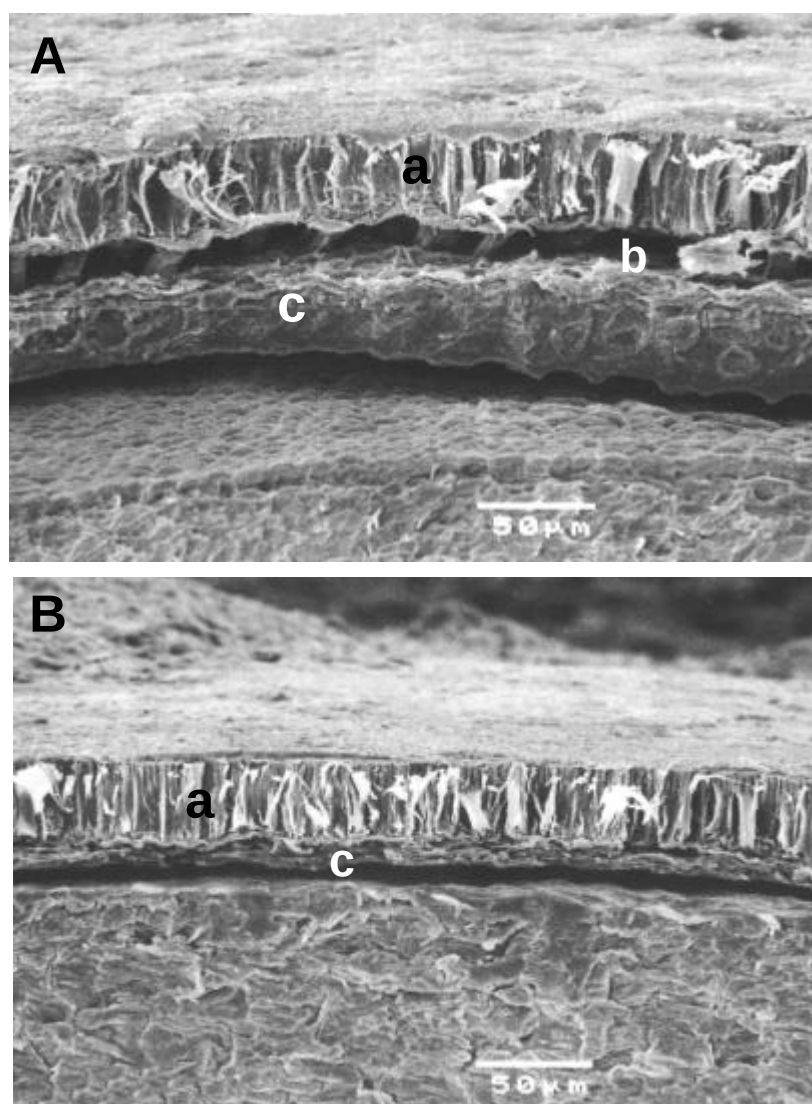


Figura 9. Eletromicrografias de varredura da testa de duas sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, envelhecidas por 72 horas, a 42°C, exibindo entre si alteração no grau de colapso da camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica com reduzida espessura. B) Camada hipodérmica ausente (a= camada paliçádica; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

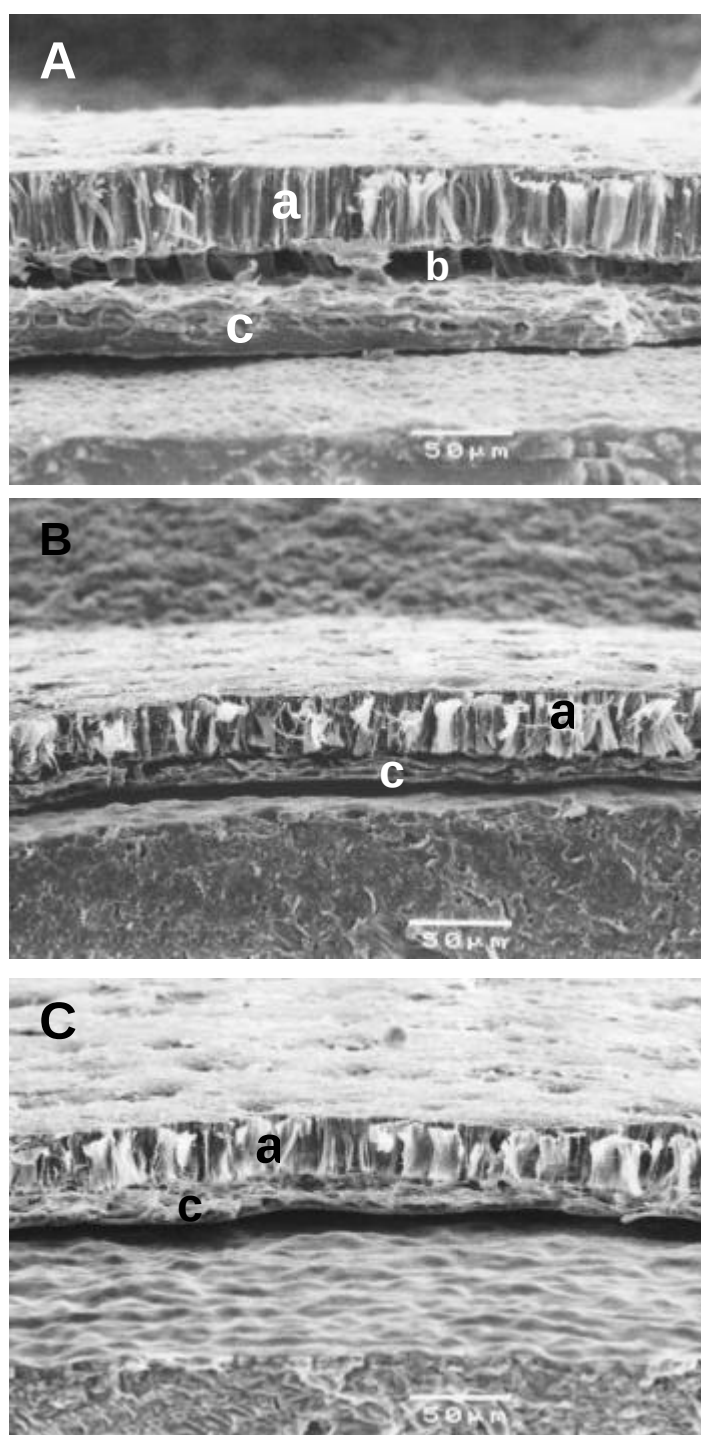


Figura 10. Eletromicrografias de varredura da testa de três sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, envelhecidas por 96 horas, a 42°C, exibindo entre si alteração no grau de colapso da camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica com reduzida espessura. B) Camada hipodérmica quase ausente. C) Camada hipodérmica ausente (a= camada paliçádica; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

Experimento II: Potencial fisiológico e anatomia da testa de sementes de soja armazenadas em câmara fria e em condições ambientais do laboratório de sementes

O teor de água das sementes das duas cultivares, praticamente não variou com o decorrer do experimento nas duas condições de armazenamento (Tabela 12). As condições de laboratório contribuíram para que as sementes das duas cultivares apresentassem teor de água mais baixo do que na câmara fria, durante todo o período de armazenamento (Apêndice 1).

Tabela 12. Teor de água (%) das sementes de soja, cultivares Monsoy 8400 e 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Cultivares	Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)		
		0	3	6
Monsoy 8400	Câmara fria	9,8	10,3	9,7
	Laboratório	¹ —	7,4	7,4
Monsoy 8411	Câmara fria	9,9	10,7	10,0
	Laboratório	¹ —	7,7	7,7

¹ Antes do início do experimento as sementes estavam armazenadas em câmara fria, assim o teor de água das sementes armazenadas em laboratório foi verificado aos três e seis meses.

Não houve alteração significativa tanto da germinação (Tabelas 13 e 14) como da emergência de plântula em areia (Tabelas 15 e 16) para as duas cultivares, durante o período de armazenamento nas duas condições ambientais. As condições de laboratório, ao proporcionarem redução ao teor de água das sementes durante todo o experimento de armazenamento, podem ter contribuído para a manutenção da germinação.

Tabela 13. Germinação (%) de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	91,0	94,0	83,0	89,3A
Laboratório	91,0	89,0	89,0	89,6A
Médias	91,0a	91,5a	86,0a	

condições de armazenamento = 5,47

C.V (%) períodos de armazenamento = 9,01

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 14. Germinação (%) de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	93,5	91,0	87,0	90,5A
Laboratório	93,5	85,5	89,0	89,3A
Médias	93,5a	88,3a	88,0a	

condições de armazenamento = 3,35

C.V (%) períodos de armazenamento = 10,48

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A emergência de plântulas em campo, da cultivar Monsoy 8400, apresentou diferenças estatísticas aos seis meses entre os ambientes de armazenamento (Tabela 17) e, também, para o armazenamento em laboratório. Para a cultivar Monsoy 8411, não foi verificada nenhuma diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 18).

Tabela 15. Emergência de plântula (%) em areia de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	93,5	92,0	90,0	91,8A
Laboratório	93,5	93,0	92,0	92,8A
Médias	93,5a	92,5a	91,0a	

condições de armazenamento = 1,53
C.V (%) períodos de armazenamento = 7,32

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 16. Emergência de plântula (%) em areia de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	94,5	96,5	96,5	95,8A
Laboratório	94,5	90,5	89,5	91,5A
Médias	94,5a	93,5a	93,0a	

condições de armazenamento = 5,13
C.V (%) períodos de armazenamento = 5,43

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Para a cultivar Monsoy 8400, o teste de envelhecimento acelerado (Tabela 19) apontou diferenças fisiológicas entre as condições e os períodos de armazenamento, apenas para as condições de laboratório, indicando redução do potencial fisiológico das sementes aos três e seis meses. As sementes armazenadas em câmara fria mantiveram qualidade semelhante durante o experimento.

Tabela 17. Emergência de plântula (%) em campo de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	89,5Aa	90,0Aa	80,0Aa	86,5A
Laboratório	89,5Aa	94,0Aa	66,0Bb	83,2A
Médias	89,5a	92,0a	73,0b	

condições de armazenamento = 8,51
C.V (%) períodos de armazenamento = 7,03

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 18. Emergência de plântula (%) em campo de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	91,5	92,5	84,5	89,5A
Laboratório	91,5	92,0	83,3	88,9A
Médias	91,5a	92,3a	83,9b	

condições de armazenamento = 3,26
C.V (%) períodos de armazenamento = 6,25

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Não houve interação significativa entre as condições e os períodos de armazenamento, no teste de envelhecimento acelerado, para as sementes da cultivar Monsoy 8411 (Tabela 20).

Tabela 19. Vigor (%) avaliado pelo teste de envelhecimento acelerado, de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	75,0Aa	78,0Aa	80,0Aa	77,7A
Laboratório	75,0Aa	68,5Bb	67,5Bb	70,3B
Médias	75,0a	73,3a	73,8a	

condições de armazenamento = 4,85
C.V (%) períodos de armazenamento = 3,65

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 20. Vigor (%) avaliado pelo teste de envelhecimento acelerado, de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	84,0	78,0	76,5	79,5A
Laboratório	84,0	80,0	76,5	80,2A
Médias	84,0a	79,0a	76,5a	

condições de armazenamento = 11,29
C.V (%) períodos de armazenamento = 8,73

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

De maneira geral, para as duas cultivares, os resultados do teste de condutividade elétrica mostraram diferenças significativas quanto a lixiviação de solutos entre as condições e os períodos de armazenamento (Tabelas 21 e 22). Para as sementes conservadas em câmara fria ocorreu menor perda de lixiviados do que para as armazenadas em laboratório. Entretanto, a maior lixiviação de solutos encontrada na água de embebição das sementes, das duas cultivares,

armazenadas em laboratório, em relação às aquelas armazenadas em câmara fria, pode ser decorrência do teor de água inferior das sementes armazenadas nesse ambiente, durante todo o período do experimento. De acordo com vários pesquisadores (TAO, 1978; McDONALD Jr. e WILSON, 1979; LOEFFLER et al., 1988; HAMPTON et al., 1992; HAMPTON et al., 1994; CARVALHO, 1994; VIEIRA et al., 2002) o teor de água inicial, entre outros fatores, influencia os resultados da condutividade elétrica. Teores de água inferiores a 10-11% aumentam significativamente a condutividade elétrica, sem alterar o potencial fisiológico das sementes (LOEFFLER et al., 1988; HAMPTON et al., 1992; CARVALHO, 1994). VIEIRA et al., (2001), ao armazenarem sementes de soja a 10°C, verificaram que, possivelmente, essa condição de armazenamento estabilizou a integridade da membrana, pois não foi encontrada nenhuma alteração nos resultados da condutividade elétrica durante o experimento, o que segundo os mesmos pesquisadores pode ser decorrência do reparo ou reorganização das membranas durante o armazenamento à baixa temperatura. Ainda, FERGUSON (1988) verificou aumento nos valores de condutividade elétrica e redução nos de germinação após o envelhecimento acelerado quando as sementes de soja foram armazenadas a 25°C por seis meses, entretanto, praticamente não houve alteração na condutividade elétrica quando as sementes foram armazenadas a 10°C, apesar de redução nos valores de germinação após o teste de envelhecimento acelerado.

Considera-se que a deterioração da semente esteja diretamente relacionada à perda da integridade das membranas (BEWLEY e BLACK, 1994), o que conduz ao aumento da lixiviação de solutos (MATTHEWS e POWELL, 1981). Com o aumento do período de armazenamento, em condições de laboratório, para ambas as cultivares, ocorreu uma maior perda de solutos; entretanto, em câmara fria não houve perda de lixiviados durante o período de armazenamento para as sementes da cultivar Monsoy 8400 (Tabela 21), enquanto, para as da cultivar Monsoy 8411 (Tabela 22) houve perda significativa após seis meses. Em condições de laboratório, ocorreu a maior liberação de eletrólitos à medida que o período de armazenamento aumentou, provavelmente, devido ao aumento do

grau de deterioração. Vale ressaltar que as variações que ocorreram entre o início e o terceiro mês de armazenamento, estavam de acordo com os padrões de condutividade considerados como indicativos de sementes de alto vigor (VIEIRA, 1994).

Segundo POWELL (1988) o grau de alterações bioquímicas deteriorativas e/ou danos físicos influenciam diretamente a integridade das membranas celulares. Para WOODSTOCK (1973) a exsudação de constituintes celulares é inversamente proporcional ao vigor, em virtude de representar a perda da integridade das membranas e, conseqüentemente, dos constituintes celulares e também por servir como substrato para o desenvolvimento de microrganismos, acelerando portanto o processo de deterioração.

Tabela 21. Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$) da solução de embebição de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	64,0Aa	66,8Ba	74,4Ba	68,4B
Laboratório	64,0Ac	79,1Ab	98,7Aa	80,6A
Médias	64,0c	72,9b	86,6a	
condições de armazenamento = 7,56				
C.V (%)	períodos de armazenamento = 8,14			

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A integridade do tegumento (TAO, 1978; SAMAD e PEARCE, 1978; DUKE e KAKEFUDA, 1981) e sua permeabilidade (POWELL e MATTHEWS, 1979), bem como a desestruturação das membranas (GIVELBERG et al., 1984 e POWELL, 1986), além de outros fatores, influenciam os resultados da condutividade elétrica. Em muitas leguminosas a testa intacta das sementes constitui-se em uma barreira contra os danos às membranas, devido a rápida absorção de água (DUKE e

Tabela 22. Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$) da solução de embebição de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	61,3Ab	63,6Bab	71,6Ba	65,5B
Laboratório	61,3Ac	77,4Ab	94,9Aa	77,9A
Médias	61,3c	70,5b	83,3a	

C.V(%) condições de armazenamento = 6,68
 períodos de armazenamento = 6,61

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

KAKEFUDA, 1981). Quando a testa é danificada ou removida, a extensão do dano por embebição aumenta e, conseqüentemente, há maior perda de solutos, agravando-se o problema no caso de membranas debilitadas pelo envelhecimento (POWELL, 1986).

O envelhecimento, ao afetar a anatomia da testa da semente, pode, de forma direta ou indireta, ter alterado os valores de condutividade elétrica. O envelhecimento causou uma maior permeabilidade da testa das sementes, o que pode ser identificado pelos maiores valores de condutividade. O grau de colapso das células das camadas da testa pode ter facilitado o processo de embebição da semente, influenciando assim a perda de lixiviados. De acordo com AGBO et al., (1987) a espessura das camadas paliçádica e hipodérmica pode estar relacionada à embebição da água dentro de um contexto físico; pois a água com o objetivo de atingir e hidratar os cotilédones, teria uma distância bem maior a percorrer em uma camada espessa do que em uma camada fina de células. Alguns pesquisadores (SIMON e RAJA HARUN, 1972; McKERSIE e STINSON, 1980; BEWLEY e BLACK, 1985; HAMPTON e TEKRONY, 1995) consideram que na fase inicial do processo de embebição, a capacidade da semente de reorganizar suas membranas, assim como de reparar certos danos, físicos e/ou biológicos,

pode vir a influenciar de modo acentuado a quantidade de lixiviados por ela liberados.

No teste frio, houve interação significativa entre as condições e os períodos de armazenamento, onde ocorreu redução no vigor das sementes das cultivares Monsoy 8400 e 8411, quando armazenadas em laboratório (Tabelas 23 e 24), aos três e seis meses de armazenamento. O decréscimo significativo no vigor foi observado nas sementes armazenadas em laboratório aos três e seis meses de armazenamento em relação ao início do experimento, para a cultivar Monsoy 8411 (Tabela 24).

Tabela 23. Emergência de plântula (%) avaliada pelo teste de frio, de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	84,5Ab	85,0Ab	93,5Aa	87,7A
Laboratório	84,5Aa	74,0Ba	76,5Ba	78,3B
Médias	84,5a	79,5a	85,0a	

condições de armazenamento = 6,02

C.V (%) períodos de armazenamento = 6,67

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Para as duas cultivares não houve interação significativa entre as condições e os períodos de armazenamento (Tabelas 25 e 26), com relação ao comprimento de plântulas, mas as sementes da cultivar Monsoy 8400 apresentaram com o decorrer do experimento um aumento significativo no vigor (Tabela 25).

Tabela 24. Emergência de plântula (%) avaliada pelo teste de frio, de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	82,0Aa	84,5Aa	86,0Aa	84,2A
Laboratório	82,0Aa	62,5Bb	73,5Bab	72,7B
Médias	82,0a	73,5b	79,8ab	

condições de armazenamento = 1,11
C.V (%) períodos de armazenamento = 5,86

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 25. Comprimento de plântulas (mm) de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	242,5	263,8	271,9	259,4A
Laboratório	242,5	245,7	257,7	248,6A
Médias	242,5b	254,8ab	264,8a	

condições de armazenamento = 7,22
C.V (%) períodos de armazenamento = 6,28

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 26. Comprimento de plântulas (mm) de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	267,6	262,0	254,0	261,2A
Laboratório	267,6	266,0	269,1	267,6A
Médias	267,6a	264,0a	261,6a	
C.V (%) condições de armazenamento = 3,87 períodos de armazenamento = 7,91				

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Aos três e seis meses de armazenamento, para a cultivar Monsoy 8400, ocorreu o decréscimo da matéria seca da plântula no ambiente de laboratório em comparação ao de câmara fria (Tabela 27). Entretanto, para a cultivar Monsoy 8411, não houve interação significativa da matéria seca entre os tratamentos adotados (Tabela 28). O vigor não variou significativamente em função do período de armazenamento; já para as condições de armazenamento um decréscimo significativo pode ser observado nas sementes armazenadas em laboratório, para as duas cultivares (Tabelas 27 e 28).

Tabela 27. Matéria seca de plântulas (mg) de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	34,9	38,3	37,8	37,0A
Laboratório	34,9	35,1	32,9	34,3B
Médias	34,9a	36,7a	35,4a	
C.V (%) condições de armazenamento = 4,37 períodos de armazenamento = 4,02				

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 28. Matéria seca de plântulas (mg) de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	37,1	38,9	36,6	37,5A
Laboratório	37,1	35,6	34,4	35,7B
Médias	37,1a	37,2a	35,5a	
C.V (%) condições de armazenamento = 3,07 períodos de armazenamento = 6,01				

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Com relação a espessura das camadas da testa das sementes da cultivar Monsoy 8411 (Tabelas 29, 30, 31 e 32), não houve interação entre as condições e os períodos de armazenamento. Entretanto, a testa das sementes, armazenadas em câmara fria, apresentou a espessura das camadas paliçádica, hipodérmica e das três camadas combinadas, significativamente superior a da testa das sementes armazenadas em laboratório. Supõem-se que as condições da câmara fria tenham retardado o colapso das células que compõem as camadas. VIEIRA et al., (2001), ao armazenarem sementes de soja a 10°C, verificaram que, possivelmente, essa condição de armazenamento estabilizou a integridade das membranas, pois não foi encontrada nenhuma alteração nos resultados da condutividade elétrica durante o experimento, o que segundo os mesmos pesquisadores pode ser decorrência do reparo ou reorganização das membranas durante o armazenamento a baixa temperatura. Todas as camadas apresentaram um declínio significativo na espessura aos seis meses de armazenamento, e este declínio foi mais acentuado na hipoderme. O envelhecimento pode ter debilitado as membranas das células das camadas da testa, contribuindo dessa forma para a redução de espessura das referidas camadas.

Tabela 29. Espessura (μm) da camada paliçada da testa de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	49,69	51,35	43,04	48,04A
Laboratório	49,69	45,62	39,85	45,04B
Médias	49,69a	48,46a	41,42b	

condições de armazenamento = 9,70
C.V (%) períodos de armazenamento = 12,49

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 30. Espessura (μm) da camada hipodérmica da testa de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	44,46	46,46	19,85	36,92A
Laboratório	44,46	35,23	12,65	30,81B
Médias	44,46a	40,85a	16,27b	

condições de armazenamento = 30,95
C.V (%) períodos de armazenamento = 44,16

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Para as sementes da cultivar Monsoy 8400 foi observado comportamento semelhante ao da cultivar Monsoy 8411, quanto à falta de interação entre os tratamentos para a espessura das camadas (Tabelas 33, 34, 35 e 36). A espessura da camada hipodérmica (Tabela 34) apresentou variação entre as condições de armazenamento, sendo significativamente maior nas

Tabela 31. Espessura (μm) da camada parenquimática da testa de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	25,31	29,62	20,15	25,04A
Laboratório	25,31	25,65	17,42	22,81A
Médias	25,31a	27,65a	18,77b	

condições de armazenamento = 17,31
 C.V (%) períodos de armazenamento = 18,22

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 32. Espessura (μm) conjunta das camadas paliçádica, hipodérmica e parenquimática da testa de sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	119,46	127,39	83,00	109,96A
Laboratório	119,46	106,50	69,92	98,62B
Médias	119,46a	116,96a	76,46b	

condições de armazenamento = 16,99
 C.V (%) períodos de armazenamento = 19,67

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

sementes armazenadas em câmara fria. Ao longo do armazenamento a espessura das camadas paliçádica (Tabela 33) e hipodérmica (Tabela 34), e das três camadas combinadas (Tabela 36) sofreu redução.

Tabela 33. Espessura (μm) da camada paliçada da testa de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	55,00	50,31	40,23	48,54A
Laboratório	55,00	47,31	38,19	46,85A
Médias	55,00a	48,81b	39,23c	

condições de armazenamento = 7,48
 C.V (%) períodos de armazenamento = 15,48

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 34. Espessura (μm) da camada hipodérmica da testa de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	49,81	47,31	19,50	38,89A
Laboratório	49,81	35,73	12,96	32,85B
Médias	49,81a	41,50a	16,23b	

condições de armazenamento = 27,00
 C.V (%) períodos de armazenamento = 37,31

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 35. Espessura (μm) da camada parenquimática da testa de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	25,65	24,77	18,35	22,92A
Laboratório	25,65	22,46	23,27	23,81A
Médias	25,65a	23,62a	20,81a	

condições de armazenamento = 18,63

C.V (%) períodos de armazenamento = 27,54

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 36. Espessura (μm) conjunta das camadas paliçádica, hipodérmica e parenquimática da testa de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Ambiente de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)			Médias
	0	3	6	
Câmara fria	130,50	122,42	78,12	110,35A
Laboratório	130,50	105,50	74,46	103,46A
Médias	130,50a	113,96a	76,27b	

condições de armazenamento = 12,90

C.V (%) períodos de armazenamento = 22,83

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Ao observar-se as Figuras 1, 11 e 12, referentes as eletromicrografias de varredura de cortes transversais da testa de sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, armazenadas por zero, três e seis meses, respectivamente, em câmara fria, nota-se que à medida que o período de armazenamento aumentou, foi ocorrendo colapso das células da hipoderme. O mesmo comportamento foi verificado nas sementes armazenadas em laboratório por zero (Figura 1), três (Figura 13) e seis (Figura 14) meses, sendo que aos seis meses o aspecto de colapso das células da hipoderme foi mais acentuado. A testa das sementes conservadas em laboratório (Figura 14), apresentou maior colapso na hipoderme do que a das sementes armazenadas em câmara fria (Figura 12), aos seis meses.

Para a cultivar Monsoy 8411, a testa das sementes armazenadas em câmara fria apresentou uma hipoderme com colapso mais acentuado aos seis meses (Figura 16) de armazenamento, em relação aos zero (Figura 6) e três (Figura 15) meses. As eletromicrografias de varredura da testa das sementes armazenadas em laboratório, mostraram que à partir dos três (Figura 17) meses, a hipoderme tende a entrar em colapso em relação a hipoderme da testa das sementes do início do experimento (Figura 6). Aos seis meses de armazenamento em laboratório, a hipoderme (Figura 18) da testa encontrou-se com suas células em colapso. Aos três meses as células da hipoderme da testa das sementes (Figura 17) conservadas em laboratório apresentaram um aspecto mais propenso à entrar em colapso do que as da testa das sementes armazenadas em câmara fria (Figura 15). As eletromicrografias de varredura da testa das sementes armazenadas por seis meses em laboratório (Figura 18), demonstraram um colapso mais acentuado das células da hipoderme em relação as da testa das sementes armazenadas em câmara fria (Figura 16).

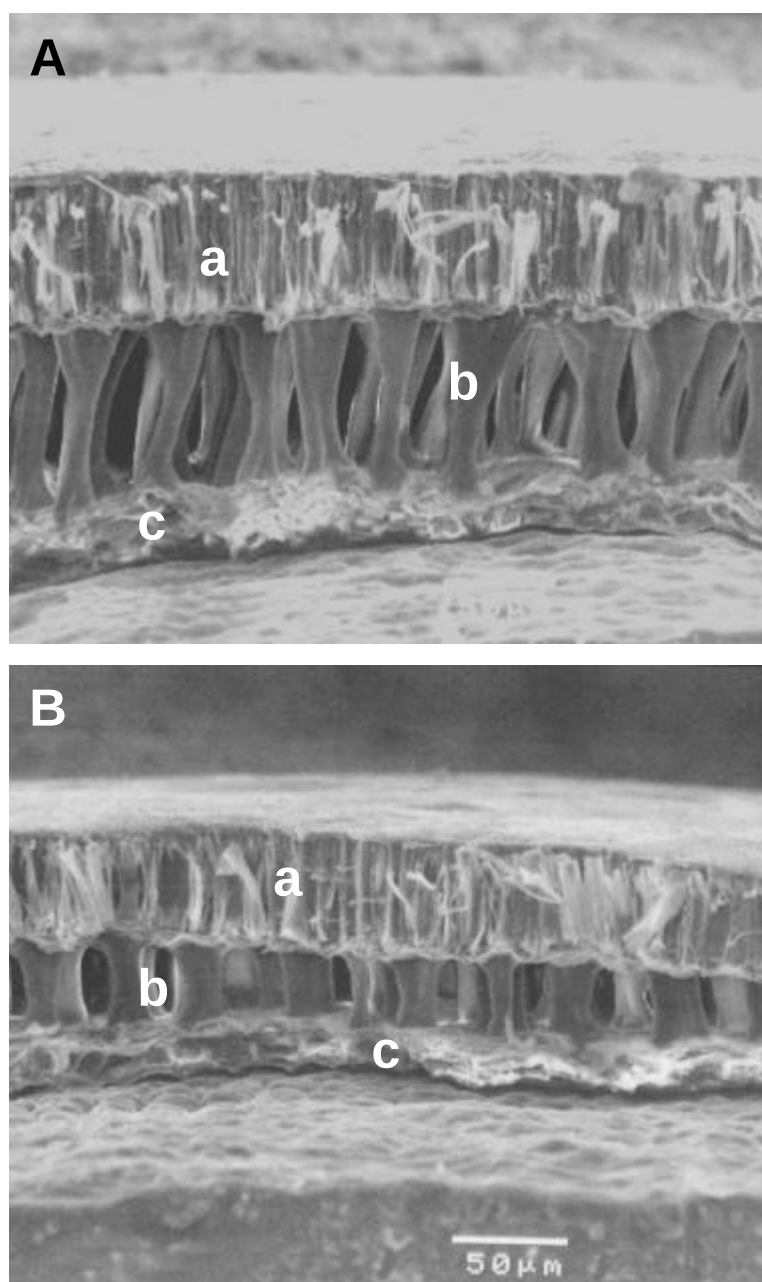


Figura 11. Eletromicrografias de varredura da testa de duas sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, armazenadas em câmara fria, por três meses, exibindo entre si alteração na espessura da camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica de espessura maior. B) Camada hipodérmica de espessura menor (a= camada paliçádica; b= hipoderme; c = parênquima lacunoso).

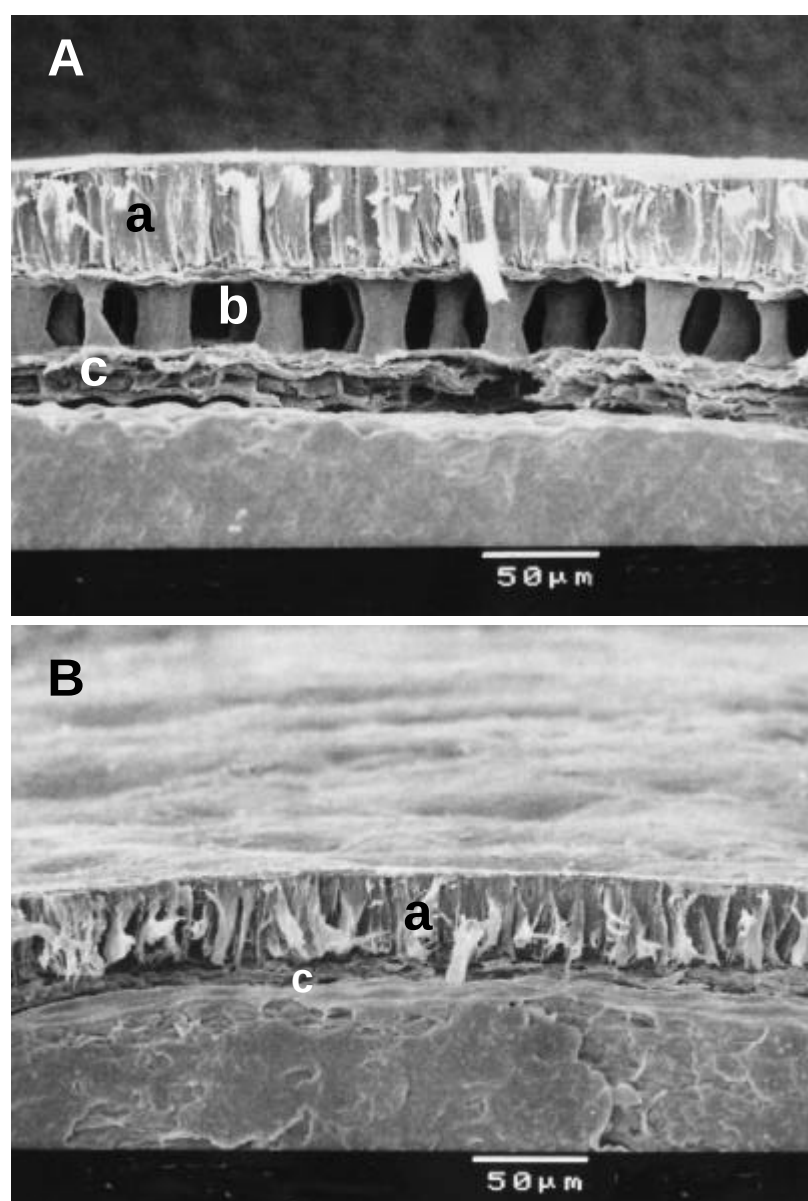


Figura 12. Eletromicrografias de varredura da testa de duas sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, armazenadas em câmara fria, por seis meses, exibindo entre si alteração na espessura da camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica sem aspecto de colapso. B) Camada hipodérmica exibindo colapso (a= camada paliçádica; b= hipoderme; c) parênquima lacunoso).

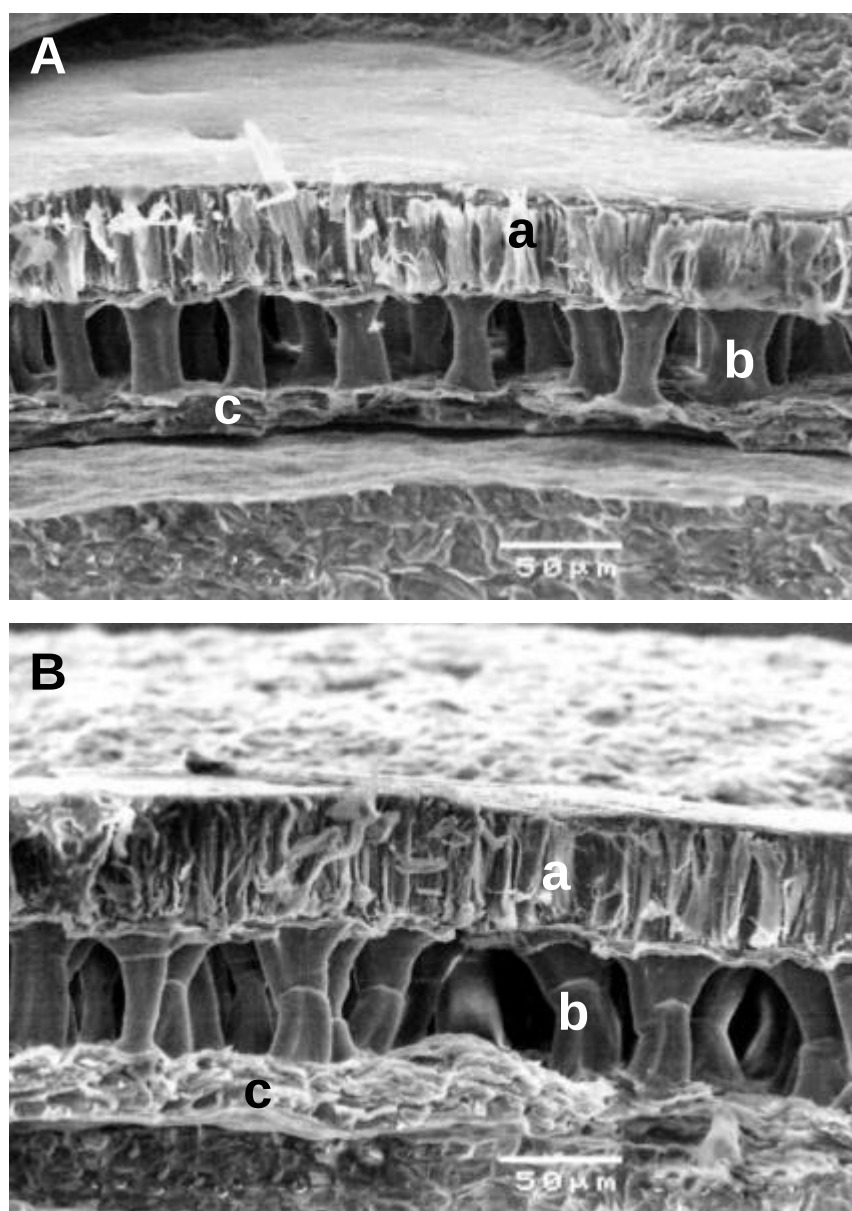


Figura 13. Eletromicrografias de varredura da testa de duas sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, armazenadas em laboratório, por três meses, exibindo entre si alteração na camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica sem aspecto de colapso. B) Osteoesclerídeos com dobras, princípio de colapso (a= camada paliádica, b= hipoderme; c= parênquima lacunoso)

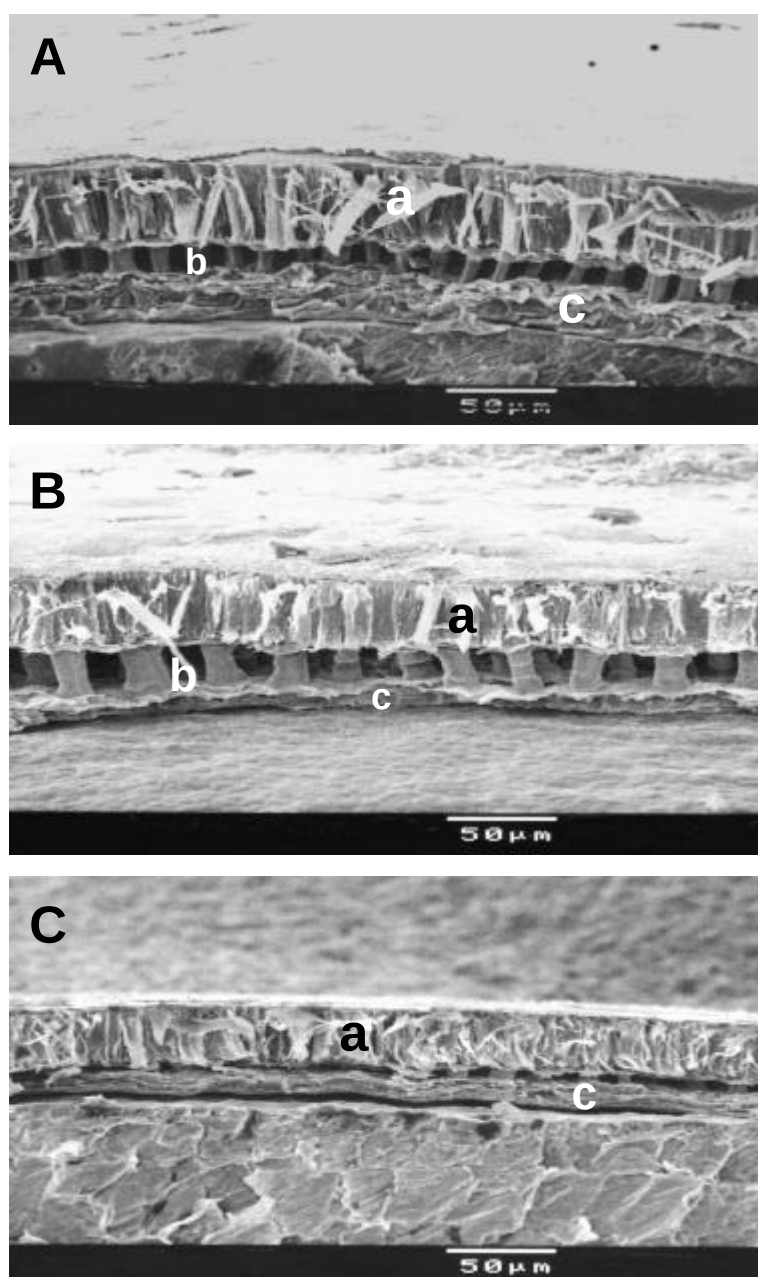


Figura 14. Eletromicrografias de varredura da testa de três sementes de soja, cultivar Monsoy 8400, armazenadas em laboratório, por seis meses, exibindo entre si alteração na camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica com pouca espessura, mas sem deformação dos osteoesclerídeos. B e C) Camada hipodérmica apresentando colapso dos osteoesclerídeos. (a= camada paliçádica, b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

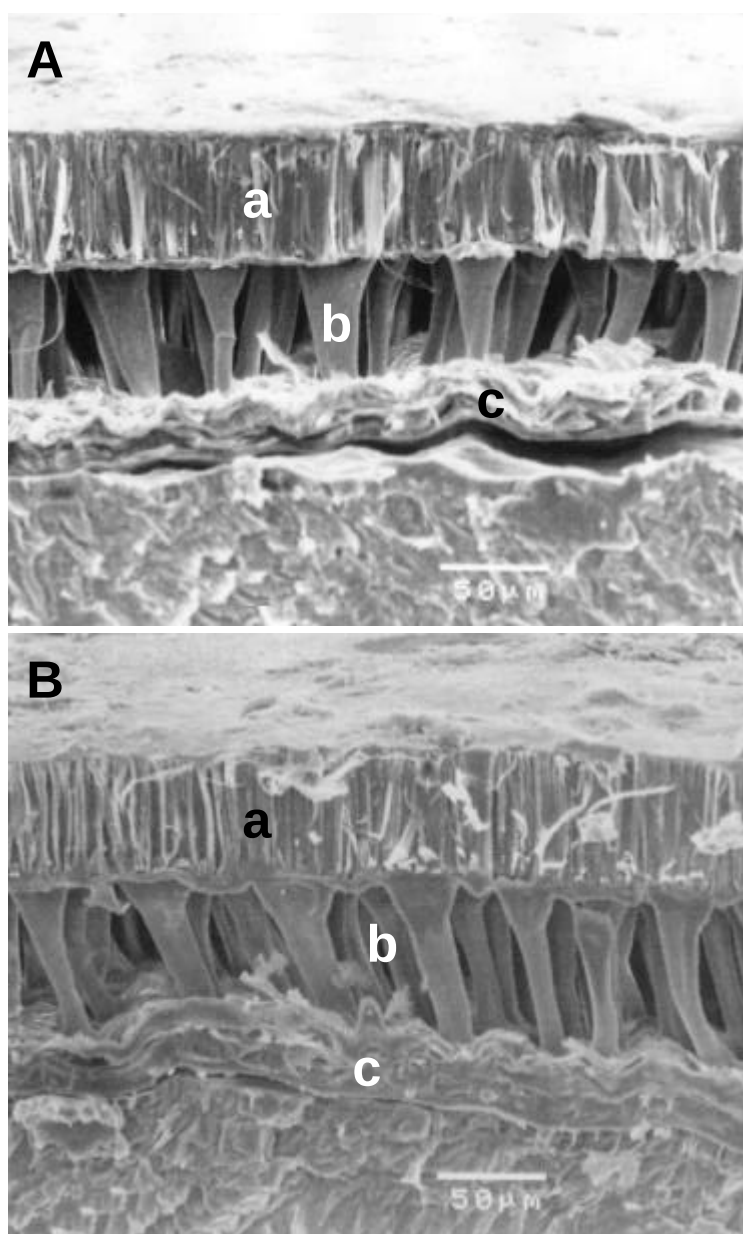


Figura 15. Eletromicrografias de varredura da testa de duas sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, armazenadas em câmara fria, por três meses, exibindo entre si alteração no ângulo de inclinação dos osteoesclerídeos. A) Osteoesclerídeos com pouca inclinação; B) Osteoesclerídeos com inclinação mais acentuada (a= camada paliçádica; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

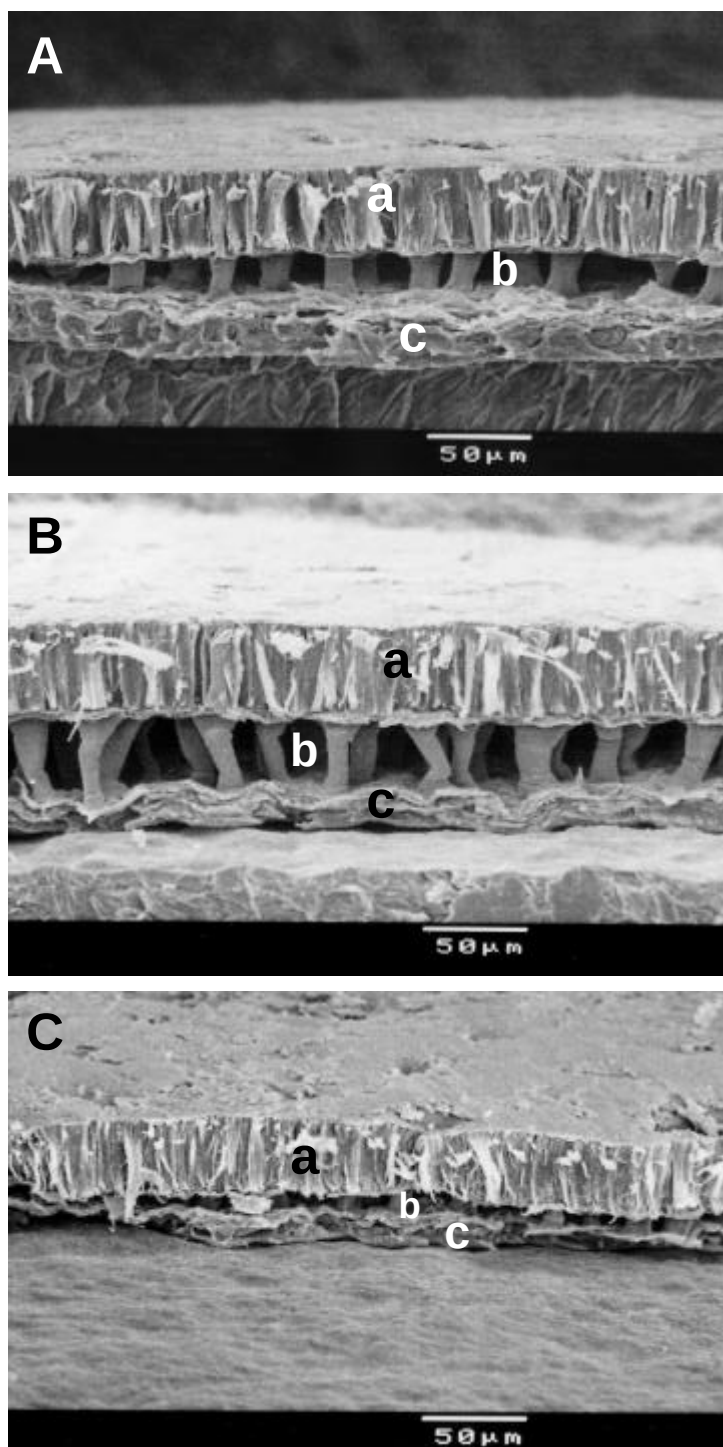


Figura 16. Eletromicrografias de varredura da testa de três sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, armazenadas em câmara fria, por seis meses, exibindo entre si alteração na camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica com pouca espessura. B) Camada hipodérmica com deformação dos osteoesclerídeos. C) Camada hipodérmica exibindo colapso. (a= camada paliçádica; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

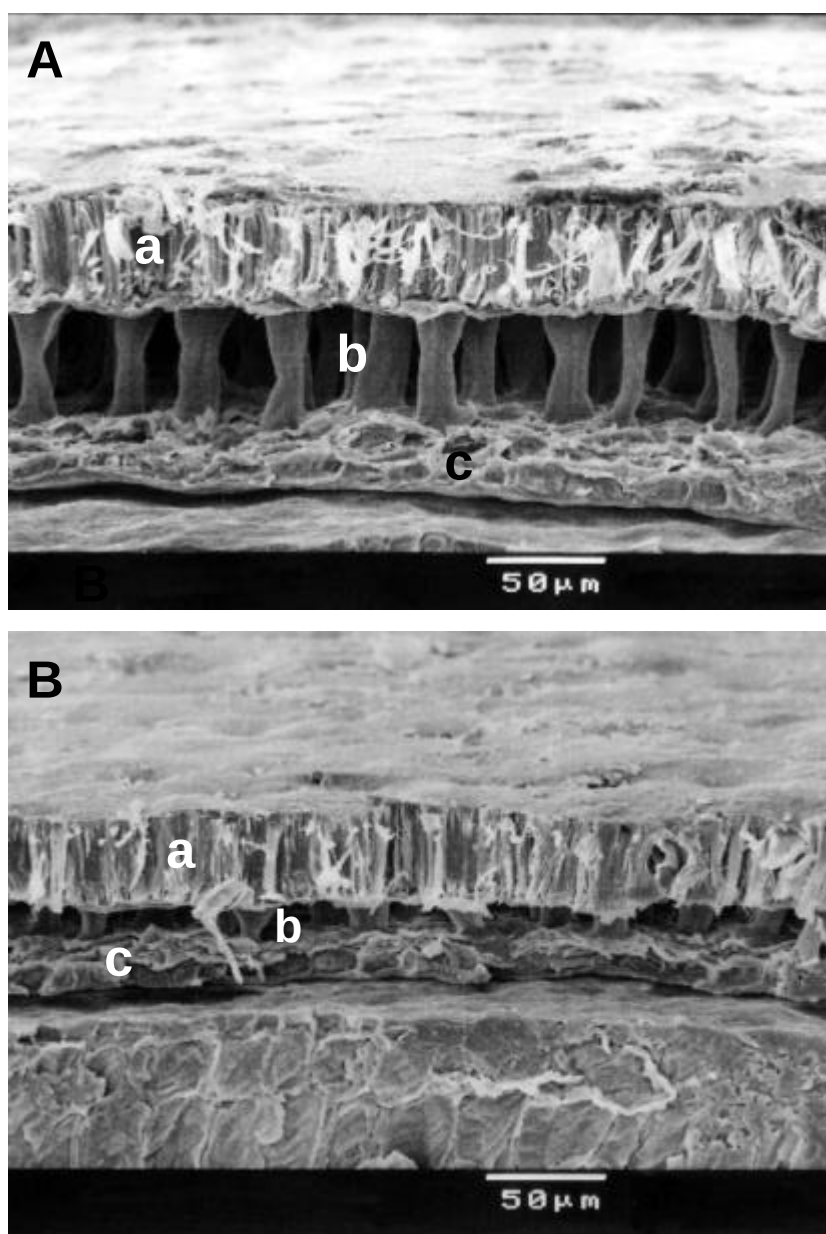


Figura 17. Eletromicrografias de varredura da testa de duas sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, armazenadas em laboratório, por três meses, exibindo entre si alteração na camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica sem apresentar aspecto de colapso. B) Camada hipodérmica exibindo colapso (a= camada paliçádica; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

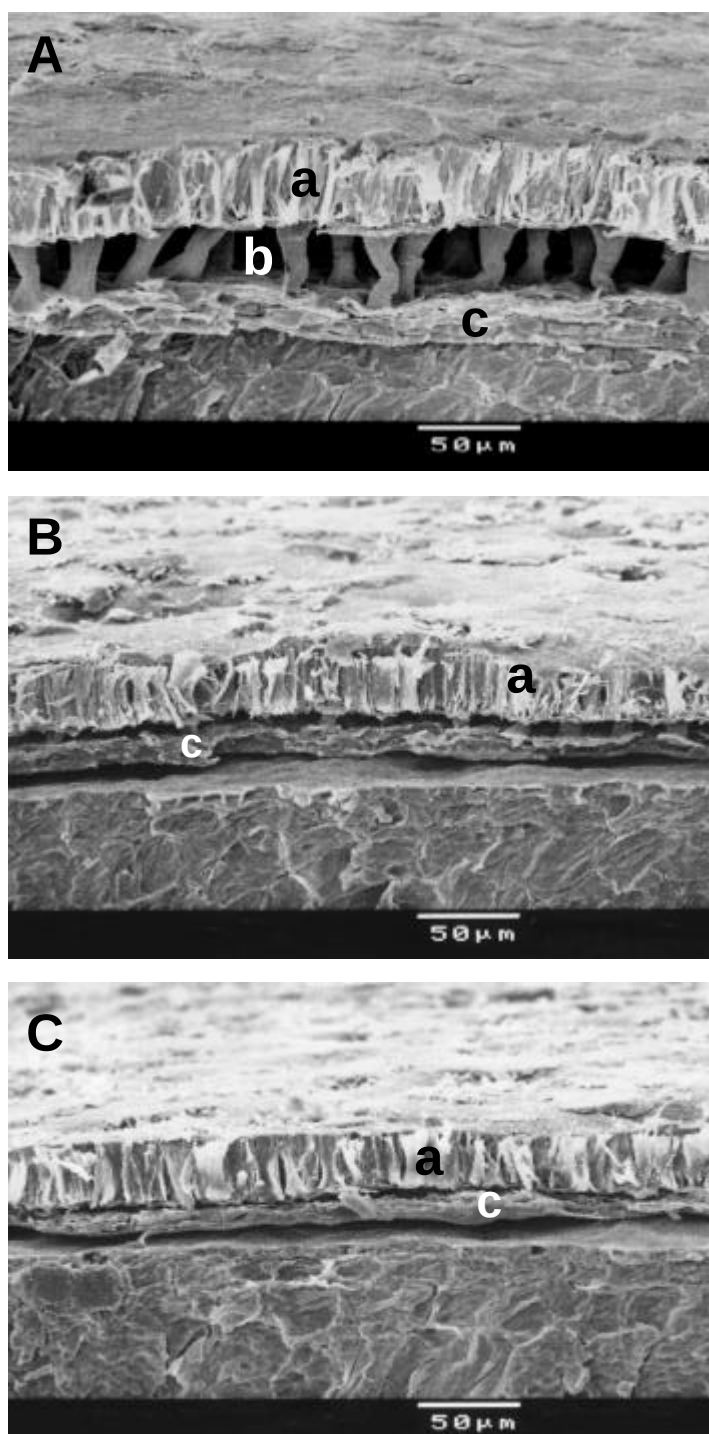


Figura 18. Eletromicrografias de varredura da testa de três sementes de soja, cultivar Monsoy 8411, armazenadas em laboratório, por seis meses, exibindo entre si alteração na camada hipodérmica. A) Camada hipodérmica com deformação dos osteoesclerídeos. B e C) Camada hipodérmica em colapso. (a= camada paliçada; b= hipoderme; c= parênquima lacunoso).

Em termos gerais, o teste de condutividade elétrica (Tabelas 21 e 22), indicou que ocorreram diferenças significativas entre os períodos de armazenamento, para as duas cultivares. Ao observar o aspecto da hipoderme da testa das sementes das duas cultivares, é possível supor que as células dessa camada ao entrarem em colapso podem ter contribuído com a perda de eletrólitos.

Partindo-se do pressuposto que a integridade da testa (TAO, 1978; SAMAD e PEARCE, 1978; DUKE e KAKEFUDA, 1981), entre outros fatores, influencia os resultados da condutividade elétrica; e que a testa intacta das sementes de leguminosas constitui-se em uma barreira contra os danos às membranas (DUKE e KAKEFUDA, 1981), o colapso das células da camada hipodérmica pode ter contribuído para aumentar a lixiviação de solutos na solução de embebição das sementes. O colapso das células da hipoderme ao ser considerado como um dano na testa, proporcionaria um aumento no dano por embebição, o que segundo POWELL (1986) provocaria uma maior perda de solutos. Para POWELL (1988) o grau de alterações bioquímicas deteriorativas e/ou danos físicos influenciam diretamente a integridade das membranas celulares.

5. CONCLUSÕES

O envelhecimento provocado as sementes pela sua exposição a elevadas temperatura e umidade relativa, causa alterações anatômicas na camada hipodérmica da testa de sementes de soja.

O colapso das células da camada hipodérmica, em função do tempo e das condições em que as sementes são armazenadas, contribui para o aumento da lixiviação de eletrólitos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWSKI, T.T. (Ed.) **Seed biological**. New York: Academic Press, 1972. V.2, cap.4, p.283-315.

ABDUL-BAKI, A.A.; BAKER, J.E. Are changes in cellular organelles or membranes related to vigor loss in seed? **Seed Science and Technology**, Zurique, v.1, n.1, p.89-125, 1973.

AGBO, G.N.; HOSFIELD, M.A.; UEBERSAX, M.A.; KLOMPARENS, K. Seed microstructure and its relationship to water in isogenic lines and a cultivar of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Microstructure**, v.6, p.91-102. 1987.

AGRAWAL, K.; MENON, K. Lignin content and seed coat thickness in relation to seedcoat cracking in soybean. **Seed Research**. v.2; p.64-66. 1974.

ALVAREZ, P.J.C.; KRZYZANOWSKI, F.C.; MANDARINO, J. M.; FRANÇA NETO, J.B. Relationship between soybean seed coat lignin content and resistance to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, Zurique, v.25, n.2, p.209-214, 1997.

ANDERSON, J.D. Adenylate metabolism of embryonic axes from deteriorated soybean seeds. **Plant Physiology**, v.59, p.610-614, 1977.

BACIU-MICLAUS, D. Contributions to the study of hrd seed and coat structures properties of soybeans. **Proc. Int. Sced Test. Assoc.**, v.35, p.599-617, 1970.

BARROS, A.S.R.; DIAS, M.C.L.L.; CICERO, S.M.; KRZYZANOWSKI, F.C. Testes de frio. In: KRZYZANOWSKI, F.C., VIEIRA, R.D., FRANÇA NETO, J. de B. (Eds.). **Vigor de Sementes: Conceitos e Testes**. Londrina: ABRATES. 1999. P.5.1-5.15.

BASAVARAJAPPA, B.S.; SHETTY, H.S.; PRAKASH, H.S. Membrane deterioration and other biochemical changes, associated with accelarated ageing of maize seeds. **Seed Science and Technology**, Zurique, v.19, n.2, p.279-286, 1991.

BAY, A.P.M., TAYLOR, A.G., BOURNE, M.C. The influence of water activity on three genotypes of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in relation to mechanical damage resistance. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.23, v.3, p.583-93, 1995.

BERJAK, P.; VILLIERS, T.A. Ageing in plant embryos. II. Age-induced damage and its repair during early germination. **New Phytology**, v.71, p.135-144, 1972a.

BERJAK, P.; VILLIERS, T.A. Ageing in plant embryos. III. Acceleration of senescence following artificial ageing treatment. **New Phytology**, v.71, p.513-518, 1972b.

BEWLEY, J.D. Membrane changes in seeds as related to germination and the perturbations resulting from deterioration in storage. In: McDONALD Jr., M.B., NELSON, C.J. (Ed.). **Physiology of seed deterioration**. Madison: Crop Science Society American, 1986. p. 1-25.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1985. 367p.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994. 444p.

BOARO, C.S.F.; CARVALHO, V.L.M. DE; BICUDO, L.R.F.; NAKAGAWA, J. Estudo de testes e laboratório para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.6, n.2, p.77-86, 1984.

BRACCINI, A. L.; REIS, M.S.; SEDYAMA, C.S.; SEDYAMA, T. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária da semente de genótipos de soja (*Glycine max* (L.)

Merrill) com diferentes graus de impermeabilidade do tegumento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.16, n.2, p.195-200, 1994.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV. 1992. 365p.

CALERO, E. **Water absorption of soybean seeds and associated causal factors**. Thesis (M.SC.) Univ. of Florida, Gainesville, Florida, 1979. 46p.

CALERO, E.; WEST, S.H.; HINSON, K. Water absorption of soybean seed and associated causal factors. **Crop Science**, v.21, p.926-933. 1981.

CARBONELL, S.A.M.; KRZYZANOWSKI, F.C. The pendulum test for screening soybean genotypes for seeds resistant to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, Zurique, v.23, n.2, p.331-339, 1995.

CARLSON, J.B.; LERSTEN, N.R. Reproductive morphology. In Soybeans: Improvement, production, and uses. (J.R. Wilcox, ed.). 2nd ed. Chapter 4. Monograph 16. American Society of agronomy, Winsconsin, p.95-134. 1987.

CARVALHO, M.V. **Determinação do fator de correção para condutividade elétrica em função do teor de água de sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]**. Jaboticabal, 1994. 36p. Monografia (Graduação) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

CARVALHO, N.M. **A secagem de sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 165p.

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

CAVINESS, C.E.; SIMPSOM, A.M.JR. Influence of variety and location on seed coat thickness of mature soybean seed. **Proc. Assoc. of Seed Anal.**, v.64, p.102-108, 1974.

CHING, T.M. Adenosine triphosphate content and seed vigor. **Plant Physiology**, v.51, p.400-402, 1973.

CORNER, E.J. The leguminous seed. **Phytomorphology**. v.1, p.117-150, 1951.

CHACHALIS, D.; SMITH, M.L. Imbibition behavior of soybean (*Glycine max* L. Merrill) accessions with different testa characteristics. **Seed Science and Technology**, Zurique, v.28, p.321-331, 2000.

DASSOU, S.; KUENEMAN, E.A. Screenig methodology for resistance to field weathering of soybean seed. **Crop Science**, Madison, v.24, n.4, p.774-779, 1984.

DELOUCHE, J.C. Seed quality and storage of soybean. In: **Soybean production and utilization**. Urbana Champaign, University of Illinois. International Agricultura, 1973. p.86-107. (Intsoy séries, n.6).

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurique, v.1, n.2, p.427-452, 1973.

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

DIAS, D.C.; CHAMMA, H.M. Conservação de sementes recalcitrantes. Piracicaba, ESALQ/USP, 1991, 49p. (trabalho apresentado na Disciplina Tópicos especiais em Sementes).

DUANGPATRA, J.J. Some characteristics of the impermeable in plant tissues. **Stain Technol.** v.50, p.1-4, 1975.

DUANGPATRA, J.J. **Some characteristics of the impermeable seed coat in soybean (*Glycine max* (.) Merrill)**. Dissertation (Ph.D), Mississippi State University, Miss., 1976. 91p.

DUKE, S.H.; KAKEFUDA, G. Role of the testa in preventing cellular rupture during imbibition of the legume seeds. **Plant Physiology**, Bethesda, v.67, n.2, p.449-456, 1981.

ESAU, K. Anatomy of seeds plants. JOHN WILEY; SONS. New York, 550p. 1977.

FERGUSON, J.M. **Metabolic and biochemical changes during the early stages**

of soybean seed deterioration. 1988. 138p. Thesis (Ph.D.) - University of Kentucky. 1988.

FRANÇA NETO, J.B. Qualidade fisiológica da semente de soja. In: França Neto, J.B.; Henning, A.A., ed. Qualidades fisiológica e sanitária de sementes de soja. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1984. p.1-24. (EMBRAPA-CNPSo, Circular Técnica, 9).

FRANÇA NETO, J.B.; COSTA, N.P.; HENNING, A.A.; GIGLIOLI, J.L. Efeito do retardamento de colheita sobre a qualidade de duas linhagens de soja com tegumento impermeável à água. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR), Resultados de pesquisa de soja 1982/83. Londrina, 1983. p.65-69.

FRANÇA NETO, J.B.; POTTS, H.C. Efeitos da colheita mecânica e da secagem sobre a qualidade da semente dura em soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.1, n.2, p.64-77, 1979.

GANGULI, S.; SEMMANDI, S. Some physiological differences between naturally and artificially aged wheat seeds. **Seed Science and Technology**, Zurique, v.18, n.3, p.507-514, 1990.

GIGLIOLI, J.L.; FRANÇA NETO, J.B. Efeito da escarificação mecânica e do retardamento de colheita sobre a emergência de sementes de soja com tegumento impermeável. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA,

2., 1981, Brasília. **Anais...** Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1982. v.1. p.601-609. (EMBRAPA -CNPSO Documentos,1).

GIVELBERG, A.; HOROWITZ, M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. Solute leakage from *Solanum nigrum* L. seeds exposed to high temperatures during imbibition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.35, n.161, p.1754-1763, 1984.

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.677-686,1992.

HAMPTON, J.G.; LUNGWANGWA, A.L.; HILL, K.A. The bulk conductivity test for *Lotus* seed lots. **Seed Science Technology**, Zurich, v.22, n.1, p.177-180,1994.

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. **Handbook of vigour test methods**. 3.ed. ISTA, Zurich, 1995. 22-34p.

HARRINGTON, J.F. Packing seed for storage and shipment. **Seed Science Technology**, Zurich,v.1, n.3, p.701-709, 1973.

HARRINGTON, J.F. Seed storage and longevity. In: Koslowski, T.T. (ed.) **Seed biology**, New York, Academic, 1972, p.145-245.

HARRIS, W.H. Comparative ultrastructure of developing seed coats of "hard-seeded" varieties of soybean, *Glycine max* (L.) Merrill. **Botanical Gazette**. v.148, p.324-331. 1987.

HARTWIG, E.E.; POTTS, H.C. Development and evaluation of impermeable seed coats for preserving soybean seed quality. **Crop Science**, Madison, v.27, n.3, p.506-508, 1987.

HILL, H.J.; WEST, S.H.; HINSON, K. *Phomopsis* spp. infection of soybean seeds differing in permeability. In: CONFERENCE ON THE DIAPORTHE/PHOMOPSIS DISEASE COMPLEX OF SOYBEAN, 1984 Fort Walton Beach. Proceedings... Springfield: USDA-ARS. National. Technical Information Service, 1985. p.54-58.
Editado por M.M Kulik.

HILL, H.J.; WEST, S.H.; HINSON, K. Soybean seed size influences expression of the impermeable seed coat trait. **Crop Science**, Madison, v.26, n.3, p.634-637, 1986.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Handbook of vigour test methods**. 3. ed. ISTA, 1995. 117p.

KILEN, T.C.; HARTWIG, E.E. An inheritance study of impermeable seed in soybeans. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.1, n.1, p.65-70, 1978.

KORBAN, S.S.; COYNE, D.; WEIHING, J.L. Rate of water uptake and sites of water entry in seeds of different cultivars of dry bean. **HortScience**, v.16, p.545-546. 1981.

KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, J.D.; SCOTTI, C.A.; SILVEIRA, J.F. O envelhecimento precoce na avaliação de lotes de sementes de feijoeiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.4, n.1, p.45-58, 1982.

KULIK, M.M.; YAKLICH, R.W. Evaluation of vigor tests in soybean seeds: relationship of accelerated aging, cold, sand bench, and speed of germination tests to field performance. **Crop Science**, Madison, v.22, n.4, p.766-770 1982.

LEWIS, N.G.; YAMAMOTO, E. Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. **Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.41, p.455-496, 1990.

LIN, S.S. Alterações na lixiviação eletrolítica, germinação e vigor da semente de feijão sob alta umidade relativa do ar e alta temperatura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.2, n.2, p.1-6, 1990.

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

LOWRY, J.B., CONLAN, L.L., SCHLINK, AAC., McSWEENEY, C.S. Acid detergent

dispersible lignin in tropical grasses. **J. Sci. Food Agric.**, Barking, v.65, n.1, p.41-9, 1994.

McDOUGALL, G.J.; MORRISON, I.M.; STEWART, D.; HILLMAN, J.R. Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. **J. Sci. Food Agric.**, v.70, n.2, p.133-150, 1996.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R.D.; Carvalho, N.M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.133-149.

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. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, n.5, p.605-613, 1984.

MATTHEWS, S. Physiology of seed ageing. **Outlook in Agriculture**, v.14, n.2, p.89-94, 1985.

MATTHEWS, S.; POWELL, .A. Electrical conductivity test. In: PERRY, D.A. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. Zurich: ISTA, 1981. P.37-42.

McDONALD Jr, M.B.; WILSON, D.O. An assesment of the standardization and ability of the ASA-610 to rapidly predict potential soybean germination. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v.4, n.1, p. 1-11, 1979.

MCDONALD JR. M.B. A review and evaluation of seed vigor tests. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, v.65, p.109-139, 1975.

MCDONALD, M.B.; VERTUCCI, C.W.; ROOS, E.C. Soybean seed imbibition: water absorption by seed parts. **Crop Science**, Madison, v.28, p.993-997, 1988.

MCDONALD, M.B.; GUPTA, I.J.; SCHMITTHENNER, A. F. Effect of storage fungi on seed vigour of soybean. **Seed Science Technology**, Zurich, v.21, p.581-591, 1993.

McKERSIE, B. D.; STINSON, R. H. Effect of dehydration on leakage and membrane structure in *Lotus corniculatus* L. seeds. **Plant Physiology**, Bethesda, v.66, n.2, p.316-320, 1980.

MEDINA, P.F.; RAZERA, L.F.; MARCOS FILHO, J. Avaliação da qualidade de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) envelhecidas artificialmente através de testes de tetrazólio e condutividade elétrica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 8., Fóz do Iguaçu, 1993. Resumo dos trabalhos técnicos. Londrina: Informativo ABRATES, 1993, v.3, n.3, p.140.

MILLER, S.S.; BOWMAN, L.A.; GIJZEN, M.; MIKI, B.L.A. Early development of the seed coat of soybean. **Annals of Botany**, v.84, p.297-304. 1999.

MINOR, H.C.; PASCHAL E.H. Variation in storability of soybeans under simulated tropical conditions. **Seed Science Technology**, Zurique, v.10, n.1, p.131-139, 1982.

MIRANDA, M.F. **Influence of some seed-borne pathogens and field weathering on soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seed quality**. Mississippi State: Mississippi State University, 1977. 60p. MSc. Thesis.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.2, p.2-24.

NOODÉN, L.D.; BLAKLEY, K.A.; GRZYBOWSKI, J.M. Control of seed coat thickness and permeability in soybean. **Plant Physiology**, v.79, p.543-545. 1985.

NOVEMBRE, A. D.L.C.; MARCOS FILHO, J. Tratamento fungicida e conservação de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.13, n.2, p.105-113, 1991.

PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B. Electrical conductivity of soybean seed and correlation with seed coat lignin content. **Seed Science Technology**, Zurich, v.27, n.3, p.945-949, 1999.

PESKE, S.T.; PEREIRA, L.A.G. Tegumento da semente de soja. **Tecnologia de Sementes**, Pelotas, v.6, p.23-34. 1983.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília, AGIPLAN. 1985. 289p.

POTTS, H.C.; DUANGPATRA, J.; HAIRSTON, W.G.; DELOUCHE, J.C. Some influences of hardseededness on soybean seed quality. **Crop Science**, Madison, v.18, n.2, p.221-224, 1978.

POWELL, A.A. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed for sowing. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v.10, n.2, p.81-100, 1986.

POWELL, A.A. Seed vigour and field establishment. **Advances in Research and Technology of Seeds**, v.11, p.29-61, 1988.

POWELL, A.A.; MATTHEWS, S. The influence of testa condition on the imbibition and vigour of pea seeds, **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.30, n.114, p.193-197, 1979.

PURKAR, J.K.; MEHRA, R.B.; BANERJEE, S.K. Seed ageing induced variability in quantitative characters of pea and wheat. 19th ISTA Congress, Vienna, Preprint 60, 1980.

ROBERTS, E.H. Loss of seed viability: chromosomal and genetic aspects. **Seed Science Technology**, Zurich, v.1, n.3, p.515-527, 1973.

SAIO, K. Soybeans resistant to water absorption. **Cereal Foods World**. v.21, p.168-173. 1976.

SAMAD, I.M.A.; PEARCE, R.S. Leaching of ions, organic molecules, and enzymes from seeds of peanut (*Arachis hypogea* L.) imbibing without testas or with intact testas. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.29, n.113, p.1471-1478, 1978.

SEFADEDEH, S.; STANLEY ,D.W. The relationship of microstructure of cowpeas to water absorption and dehulling properties. **Cereal Chemistry**, v.56, p.379-386. 1979.

SIMON, E.W. Phospholipids and plant membrane permeability. **New Phytology**, v.73, p.377-420, 1974.

SIMON, E.W.; RAJA HARUN, R.M. Leakage during seed imbibition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.23, n.77, p. 1076-1085, 1972.

SOUZA, F.H.D.; MARCOS FILHO, J. The seed coat as a modulator of seed environment relationships in Fabaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.4, p.365-375. 2001.

SRISUMA, N., RUENGSAKULRACH, S., UEBERSAX, M.A., BENNINK, M.R., HAMMERSCHMIDT, R. Cell wall polysaccharides of navy beans (*Phaseolus vulgaris*). **J. Agric. Food Chem**, Washington, v.39, n.5, p.855-8, 1991.

SWANSON, B.G.; HUGHES, J.S.; RASMUSSEN, H. Seed microstructure: review of water imbibition in legumes. **Food Microstructure**, v.4, p.115-124. 1985.

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

TAVARES, D.Q.; MIRANDA, M.A.C.; UMINO, C.Y.; DIAS, G.M. Características estruturais do tegumento de sementes de linhagens de soja permeável e impermeável. **Revista Brasileira de Botânica**. v.10, p.147-153, 1987.

VAN SOEST, P.J., WINE, R.H. Determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permanganate. **J. Assoc. Off. Agric. Chem.**, Arlington, v.51, p.780-5, 1968.

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

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

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.; SEDIYAMA, T.; SILVA, R.F.; SEDIYAMA, C.S.; THIÉBAUT, J.T. Efeito do retardamento da colheita sobre a qualidade de sementes de soja cv. "UFV-2". **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.4, n.2, p.9-22, 1982.

VIEIRA, R.D.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B.; RUCKER, M. Electrical conductivity of soybean seeds after storage in several environments. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.29, n.3, p.599-608, 2001.

WERKER, E.; MARBACH, I.; MEYER, A. M. Relationship between the anatomy of the testa, water permeability and presence of phenolics in the genus *Pisum*. **Annals of Botany**. v.43. p.765-771. 1979.

WOLF, W.J.; BAKER, F.L.; BERNARD, R.L. Soybean seed coat structural features: pits, deposits and cracks. **Scanning Electron Microscopy**. v.3, p.531-544. 1981.

WOLF, W.J.; BAKER, F.L. Scanning electron microscopy of soybeans. **Cereal Sci. Today**. v.17, p.125-131. 1972.

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

WOODSTOCK, L.W. Seed imbibition: a critical period for successful germination. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v.12, p.1-15, 1988.

YAKLICH, R.W.; VIGIL, E.L.; WERGIN, W. Scanning electron microscopy of soybean coat. **Scanning Electron Microscopy**. v.2, p.991-1000, 1984.

7. APÊNDICE

Apêndice 1. Valores médios de temperatura (°C) e umidade relativa do ar registrados durante os meses de maio, agosto e novembro.

Meses	Locais de armazenamento			
	Câmara Fria		Laboratório	
	T (°C)	UR ar	T (°C)	UR ar
Maio	10	76	—	—
Agosto	10	73,5	23,8	66,7
Novembro	9,98	81,0	25,0	70,5