Efeito da água na instalação do teste de tetrazólio sobre os danos mecânicos em sementes de soja

Jonatan Alberto Tonial^{1*}; Norma Schlickmann Lazaretti²

Resumo: A soja é uma das principais *comodities* da atualidade no Brasil e no mundo. O dano mecânico em sementes de soja se mostram mais graves, podendo ocasionar menor taxa de germinação, sendo assim se faz importante a avaliação da forma de embeber as sementes, na avaliação da qualidade fisiológica através do teste de tetrazólio. O objetivo é investigar a relação entre a forma de montar o teste de tetrazólio para embeber as sementes de soja e os resultados de dano mecânico obtidos na avaliação. O experimento foi realizado no laboratório de análise de sementes, localizado no Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz, em Cascavel, no Paraná, no mês de março de 2018. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos, sendo eles, T1 – com pré-condicionamento em pamonha, T2 – sem pré-condicionamento em pamonha, T3 – com pré-condicionamento em panqueca e T4 – sem pré-condicionamento em panqueca, com cinco repetições cada tratamento, totalizando 20 unidades experimentais. Os parâmetros avaliados foram vigor, viabilidade e dano mecânico das sementes de soja, foram obtidos resultados menos drásticos de dano mecânico quando as sementes foram submetidas ao pré condicionamento e distribuídas uniformemente sobre o papel filtro e formando uma panqueca. Para a realização do teste de tetrazólio, o uso do pré condicionamento evita erros na avaliação do teste. A montagem do teste em forma de panqueca sem o pré condicionamento potencializa o dano mecânico.

Palavras-chave: Embebição, Sensibilidade a água, Glycine max.

Effect of water on the installation of tetrazolium test on mechanical damages in soybean seeds

Abstract: Soybean is one of the main commodities of the present time in Brazil and in the world. The mechanical damage in soybean seeds is shown to be more severe, resulting in a lower rate of germination. Therefore, it is important to evaluate the way to soak the seeds in the evaluation of the physiological quality through the tetrazolium test. The objective is to investigate the relationship between the way to assemble the tetrazolium test to soak the soybean seeds and the results of mechanical damage obtained in the evaluation. The experiment was carried out in the seed analysis laboratory, located at the Centro Universitário Assis Gurgacz Foundation, in Cascavel, Paraná, Brazil, in March 2018. The experimental design was completely randomized (DIC), with four treatments, T1 - with pre-conditioning in pamonhas, T2 - without preconditioning in pamonha, T3 - with preconditioning in pancake and T4 - without preconditioning in pancakes, with five repetitions each treatment, totaling 20 experimental units. The evaluated parameters were to verify the levels of vigor, viability and mechanical damage of the soybean seeds, being they, with preconditioning in the pamonha and in the pancake, without preconditioning in the pamonha and in the pancake, without preconditioning in the pamonha and in the pancake. The analyzes were less drastic when they were preconditioned and evenly distributed over the paper filter and forming a pancake. In order to perform the tetrazolium test, the use of preconditioning avoids errors in the evaluation of the test. The assembly of the pancake test without the potentiation conditioning of the mechanical damage.

Key words: Soaking, Water Sensitivity, *Glycine max*.

¹Acadêmico do curso de Agronomia do Centro Universitário Assis Gurgacz – FAG.

²Engenheira Agrônoma. Professora do Centro Universitário Assis Gurgacz – FAG.

^{*}Jonatan tonial@hotmail.com.

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma das principais *comodities* da atualidade no Brasil e no mundo. Originária da China, se disseminou por todos os continentes. Porem seu cultivo começou como forrageira em meados do ano 1890 nos Estados Unidos. Posteriormente no ano de 1940 a leguminosa chegou ao Paraguai e ao México e Argentina no ano de 1950. A sua chegada no Brasil foi no estado da Bahia no ano de 1882.

De acordo com Meneghello e Peske (2013), a produção de sementes de soja é um desafio que não acaba, sempre visando aperfeiçoar alguma tecnologia em questão para aprimorar a qualidade fisiológica da semente, o desafio se torna um pouco mais complicado, principalmente na região central brasileira. A semente de soja tem de ser mais resistente as variações climáticas, em alguns casos fazer uso de práticas que reduzam o processo de deterioração da mesma.

Segundo França Neto *et al.* (2016), uma boa produção semente de soja pode ser prejudicada em todas as fases do sistema de produção de sementes, envolvendo as seguintes etapas, campo, colheita, recepção, secagem, beneficiamento, armazenagem, transporte e semeadura.

De acordo com Meneghello (2014), a umidade e a temperatura tem suma importância para o desenvolvimento da planta, a agua principalmente se houver um déficit hídrico vai afetar não só a germinação e a emergência da planta, mais sim todos os processos do desenvolvimento da mesma. O seguinte tema que direciona a umidade ideal para germinação e posteriormente emergência e todo o seu desenvolvimento. O excesso hídrico também tem suas desvantagens, como por exemplo, o atraso na colheita.

Conforme Silva Nunes (2016), completada a fase vegetativa de uma planta, cujo período, em dias, pode alternar bastante dentro de uma só cultivar, inicia-se a fase reprodutiva, aonde sua duração é praticamente constante. Este seria obviamente o motivo de se ter épocas recomendadas de semeadura, em função de uma certa cultivar ser de maturidade precoce ou tardia. Quando iniciada a fase reprodutiva da planta, a mesma se torna irreversível e assim determina a perpetuação de sua espécie.

De acordo com as Brasil (2009), o teste de tetrazólio tem como função, determinar ligeiramente a viabilidade das sementes. É um teste bioquímico que pode ser usado quando a necessidade das sementes serem semeadas logo após a colheita, quando se tem dormência ou problemas encontrados no teste de germinação que precisam ser resolvidos com rapidez e eficácia, um desses problemas encontrado seria um vasto número de plantas anormais. Outra função é determinar o vigor das sementes, determinando também os percentuais danos por

secagem, insetos, umidade, assim constatando danos mecânicos por colheita e/ou beneficiamento.

Conforme Marcos Filho (2015), a difusão do sal de tetrazólio resulta em um tecido avermelhado na semente, não difusível, dado o nome de formazam, quer dizer que o tecido está vivo, com atividade respiratória, já a semente que esteja deteriorada vai estar descolorida, ou vai apresentar uma coloração anormal, o caso se dá por que as sementes com danos apresentam pouco H⁺ e não conseguem reagir ao sal de tetrazolio, se identificando como sementes de baixo vigor.

Segundo Zorato (2001), o teste de tetrazolio está sendo muito usado, pois podem ser utilizado desde a pré colheita até o momento da semeadura, ou seja, em todos as fases do desenvolvimento produtivo, tendo como função monitorar e diagnosticar diferentes lotes de sementes de soja.

De acordo com Marcos Filho (2015), as injurias mecânicas nas sementes danificam o seu tegumento causando vários danos como por exemplo, trincamento, cortes, muitos deles causados por pressões, impactos. Foi constatado que estas sementes danificadas constituem um grau de umidade maior que as intactas, tendo por consequência negativa injurias por embebição rápida, e também uma baixa capacidade de armazenamento, e maiores ataques de insetos e microorganismos.

Segundo Marcos Filho (2015), pré condicionamento que significa de maneira mais clara sementes embebidas, se dá pelo método de colocar as sementes distribuídas entre folhas de papel toalha, de maneira continua, com a finalidade dessas sementes desenvolver uma coloração quando entra em contato com a solução de tetrazólio, ocorre por que as sementes são higroscópica e ativam as propriedades do seu metabolismo, o processo em si fica em torno de 12 a 16 horas, a uma temperatura de 30°C.

Segundo Ferreira Pinto *et al.* (2012), em colheitas mecanizadas de sementes de soja, o teor de água varia entre 12-15,9%, este seria o recomendado para evitar os seguintes danos mecânicos e perdas do produto. Já a média para que ocorra danos mecânicos latentes seria a colheita com índice de umidade acima de 16% na semente, não se deve também colher a semente com teor de umidade inferior a 12%, para que não se tenha problema com danos imediato.

A água prontamente disponível na embebição para as sementes de soja podem induzir a erros na avaliação do teste de tetrazólio, quando se trata de dano mecânico.

O objetivo deste trabalho foi investigar qual a relação entre a forma de montar o teste de tetrazólio para embeber as sementes de soja e os resultados de dano mecânico obtidos na avaliação.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no laboratório de análise de sementes, localizado no Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz, em Cascavel, no Paraná, no mês de março de 2018.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos, sendo eles, T1 – com pré-condicionamento em pamonha, T2 – sem pré-condicionamento em pamonha, T3 – com pré-condicionamento em panqueca e T4 – sem pré-condicionamento em panqueca, com cinco repetições cada tratamento, totalizando 20 unidades experimentais.

Na montagem do teste de tetrazólio, os tratamentos com pré-condicionamento foram pré-condicionados, utilizando caixa plástica tipo gerbox com tela em aço inox, sendo adicionado 40 ml de água no gerbox e as sementes depositadas em camada única (42 g) sobre a tela. As caixas gerbox ficaram por 24 horas a 25 °C em BOD. Após este período, as sementes foram depositadas sobre papel filtro umedecido com 2,7 vezes o peso seco do substrato. Na montagem dos tratamentos sem pré-condicionamento e com pré-condicionamento, no formato de panqueca as sementes foram distribuídas sobre o papel com o auxílio de um tabuleiro, e no formato pamonha as sementes foram depositadas condensadamente sobre o papel.

Após montadas as pamonhas e panquecas, as mesmas ficaram por 16 horas a 25°C acondicionadas em saco plástico.

Posteriormente a este período, as mesmas foram submetidas a solução de 2,3,5 – trifenil cloreto tetrazólio na concentração de 0,05%, por 2,5 horas na temperatura de 38°C para posterior avaliação conforme Zorato, (2001).

Na avaliação do teste de tetrazólio, foi verificado os níveis de vigor, viabilidade e dano mecânico das sementes de soja, submetidas as diferentes forma de embeber as sementes conforme citado acima.

Os dados obtidos no experimento foram submetidos a análise de variância, e as médias comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância, com o auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011)

Resultados e Discussão

Tabela 01 - Resumo da análise de variância e coeficientes de variação referente à variável percentagem de Dano Mecânico 6-8 (DM 6-8), Vigor e Viabilidade, Cascavel/PR, 2018

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado médio		
		DM 6-8	Vigor	Viabilidade
Tratamentos (T)	3	80,27	129,80	147,73
F calculado		7,72*	4,51*	6,21*
Resíduo	16	10,40	28,80	23,80

^{*}Significativo a 5% de probabilidade de erro; ^{ns} não significativo a 5% de probabilidade de erro. GL = Graus de Liberdade.

Podemos verificar na tabela 01 que houve diferença significativa a 5% de probabilidade entre os diferentes tratamentos para a variável DM 6-8, vigor e viabilidade.

Tabela 02 – Resultados de Dano Mecânico 4-5 (DM 4-5), Dano Mecânico 6-8 (DM 6-8) e Dano Mecânico 1-8 (DM 1-8), Cascavel/PR, 2018

T4	Níveis de dano mecânico			
Tratamentos —	DM 4-5	DM 6-8	DM 1-8	
T 01	6 a	8 ab	30 a	
T 02	6 a	12 a	29 a	
T 03	6 a	5 b	22 a	
T 04	6 a	14 a	31 a	
CV (%)	50,00	32,91	21,76	
DMS	5,43	5,84	11,07	

^{*}Médias seguidas de mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. T1 – com pré-condicionamento em pamonhas, T2 – sem pré-condicionamento em pamonha, T3 – com pré-condicionamento em panqueca e T4 – sem pré-condicionamento em panquecas. C.V. = Coeficiente de variação

D.M.S. = Diferença mínima significativa

Na análise dos dados do Teste de Tukey não houve diferença significativa quando avaliada a subclasse DM 4-5 e DM 1-8 no teste de tetrazólio, porém quando observamos a classe DM 6-8 tivemos melhor resposta no tratamento 03, reforçando que a forma de distribuir as sementes sobre o substrato, onde todas as sementes tenham o mesmo acesso à água, favorece a embebição de forma uniforme após o pré condicionamento. Isso corrobora com o Vertucci (1989), citado por Rossetto (1997), onde a reorganização dos constituintes celulares de forma eficiente está diretamente ligada a velocidade de absorção da água pelas

sementes, através da pressão osmótica da água que umedeci o papel filtro, também do tempo em que a semente permanecerá a um local mais úmido, da temperatura ambiente, da permeabilidade do tegumento, do teor de umidade inicial, dos aspectos intrínsecos das semente e perfil fisiológico.

Tabela 03 – Resultados de Vigor e Viabilidade, Cascavel/PR, 2018

Tuetementee	Níveis de vigor e viabilidade			
Tratamentos	Vigor	Viabilidade		
T 01	79 ab	89 ab		
T 02	72 b	81 b		
T 03	82 a	92 a		
T 04	72 b	82 b		
CV (%)	7,03	5,67		
DMS	9,71	8,83		

^{*}Médias seguidas de mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. T1 – com pré-condicionamento em pamonhas, T2 – sem pré-condicionamento em pamonha, T3 – com pré-condicionamento em panqueca e T4 – sem pré-condicionamento em panquecas.

De acordo com o observado na tabela 03, o T3 foi o que apresentou o maior vigor e viabilidade, devido a forma lenta de embebição da água no período de pré condicionamento e posterior distribuição da semente sobre o papel filtro, isso é validado por Tilden & West (1985), que afirmam que os danos ocasionados pela embebição de forma mais acelerada, reflete na diminuição do percentual de germinação das plântulas, tendo influencia a velocidade de reorganização do sistema de membranas que transparece o vigor das mesmas.

Segundo a classificação de Pimentel Gomes e Garcia (2002), os coeficientes de variação abaixo de 10%, como os observados para as variáveis Vigor e Viabilidade (Tabela 02), podem ser classificados como baixos, sendo que os valores de coeficiente de variação indicam pouca variação do conjunto de dados analisados, conferindo confiabilidade aos resultados obtidos. Por outro lado, segundo a classificação do mesmo autor, o coeficiente de variação observado para as variáveis Dano Mecânico 4-5 (DM 4-5), Dano Mecânico 6-8 (DM 6-8) são classificados como altos, mostrando uma maior variação do conjunto de dados e não confiabilidade dos dados obtidos, mas em função da forma de obtenção das amostras de trabalho, que é aleatória por todas as avalições serem realizadas pelo mesmo analista, aceitamos estes resultados.

Segundo Marcos Filho (2015), o processo de embebição no pré condicionamento, fornece um controle da disponibilidade de água para semente no momento de embebição, em

uma temperatura controlada, onde a água vai sendo absorvida na semente gradualmente, possibilitando efeitos menos drásticos as sementes de soja.

O T4, onde as sementes foram distribuídas uniformemente sobre o papel umedecido teve os menores resultados, pois as sementes estavam com água prontamente disponível para embeber, potencializando o dano mecânico, isso reforça o que Palagi (2004)0 descreve, evidenciando que a forma de montagem dos testes em laboratório pode influenciar negativamente nos resultados das análises.

Segundo Flor (2003), dano mecânico nas sementes de soja reduzem grande parte a qualidade da semente, são identificados como rachaduras e trincas, exceto os danos mecânicos internos que precisa de um exame mais preciso para identificação do mesmo, ele pode ser pequeno ou invisível a olho nu, mais dependendo à localização do dano, pode inviabilizar a semente. As técnicas que são usadas para identificação dos possíveis danos são o teste de tetrazólio que e rápido e eficaz, uma tecnologia super importante para ter em mente a qualidade da sua semente

Conclusão

Foram obtidos resultados menos drásticos de dano mecânico quando as sementes foram submetidas ao pré condicionamento e distribuídas uniformemente sobre o papel filtro e formando uma panqueca.

Para a realização do teste de tetrazólio, o uso do pré condicionamento evita erros na avaliação do teste.

A montagem do teste em forma de panqueca sem o pré condicionamento potencializa o dano mecânico.

Referências

- BRASIL. MINISTERIO DA AGRICULTURA E REFORMA AGRARIA, **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DND/CLV, 2009. 395p.
- FLOR, E. P. O. Avaliação de danos mecânicos em sementes de soja por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 26, n°1, p.68-76, 2004.
- FERREIRA PINTO, T. L. VAZ MONDO, V. H. GOMES JUNIOR, F. G. MOURE CICERO, S. Análise de imagens na avaliação de danos mecânicos em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical,** Goiânia, v. 42, n. 3, p. 310-316, jul./set. 2012.
- FRANÇA NETO, J. B. CARLOS KRZYZANOWSKI, F. C. ASSIS HENNING, A. PIZZOLANTE PÁDUA, G. LORINI, I. AUGUSTO HENNING, F. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade** [recurso eletrônico]: Londrina: Embrapa Soja, 2016. 82 p.
- MARCOS FILHO, J. Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas. 2ª ed. Londrina. PR. ABRATES, 2015. 660p.
- MENEGHELLO, G. E. e PESKE, S. T. A grandeza do negócio de sementes de soja no Brasil. **Revista Seed News**, Julho/Agosto de 2013. Disponível em: http://www.seednews.inf.br/_html/site/content/reportagem_capa/index.php?edicao=81. Acessado em: 15 de maio de 2018.
- MENEGHELLO, G. E. Qualidade de Sementes: Umidade e Temperatura. **Revista Seed News**, Novembro / Dezembro de 2014. Disponível em: http://www.seednews.inf.br/_html/site/content/reportagem_capa/imprimir.php?id=208. Acessado em: 15 de maio de 2018.
- PALAGI, C. A. Embebição de sementes de soja para o teste de germinação. 2004. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Oeste do Paraná Marechal Candido Rondon.
- ROSSETTO, C. A. V. MARCOS FILHO, J. SILVA, W. R. NAKAGAWA, J. Comportamento das sementes de soja durante a fase inicial do processo de germinação. **Science agricola**. vol. 54 n. 1-2 Piracicaba Jan./Aug. 1997.
- SILVA NUNES, J. L. **Tecnologia de sementes Produção de sementes de Soja.** 12 de setembro de 2016. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/sementes/tecnologia-sementes/producao-de-sementes-de-soja_361337.html. Acessado em: 15 de maio de 2018.
- ZORATO, M. F. Teste de tetrazólio modificado. **Revista Seed News**, Pelotas, Ano V, nº 4, p. 21, 2001.