



ÍISIS BARRETO DANTAS

**INFLUÊNCIA DO TEOR DA LIGNINA NA
QUALIDADE E ARMAZENABILIDADE DE
SEMENTES DE SOJA INOCULADAS COM
Aspergillus flavus E *Penicillium* sp.**

**LAVRAS – MG
2012**

ÍSIS BARRETO DANTAS

**INFLUÊNCIA DO TEOR DA LIGNINA NA QUALIDADE E
ARMAZENABILIDADE DE SEMENTES DE SOJA INOCULADAS COM
Aspergillus flavus E *Penicillium sp.***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

Dr. João Almir Oliveira

**LAVRAS – MG
2012**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Dantas, Ísis Barreto.

Influência do teor da lignina na qualidade e armazenabilidade de
sementes de soja inoculadas com *Aspergillus flavus* e *Penicillium* sp.
/ Ísis Barreto Dantas. – Lavras : UFLA, 2012.

110 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: João Almir de Oliveira.

Bibliografia.

1. *Glycine Max*. 2. Armazenamento. 3. Teor de lignina. 4.
Fungos. 5. Microscopia eletrônica. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD – 631.521

ÍISIS BARRETO DANTAS

**INFLUÊNCIA DO TEOR DA LIGNINA NA QUALIDADE E
ARMAZENABILIDADE DE SEMENTES DE SOJA INOCULADAS COM
Aspergillus flavus E *Penicillium sp.***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 29 de Fevereiro de 2012

Dr. Renato Mendes Guimarães

UFLA

Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa

EMBRAPA

Dr. Antônio Rodrigues Vieira

EPAMIG

Dra. Juliana de Fátima Sales

IFGoiano

Dr. João Almir Oliveira
UFLA
(Orientador)

**LAVRAS – MG
2012**

A DEUS, por tudo.

Aos meus pais, Araken e Irene, por tanta dedicação e incentivo.

Aos meus irmãos, Matheus e Clarissa, e a meus cunhados Cristiane e Allain, pelo apoio e amizade.

À minha madrinha, tia Yolanda, pelo exemplo de força e superação.

Aos meus avós, Juca e Iracema (*in memorian*), Manoel (*in memorian*) e Ubaldina (*in memorian*).

OFEREÇO.

Aos meus sobrinhos Arthur, Mariana e Pedro.

Ao meu grande companheiro, Tiago.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e seu Departamento de Agricultura, pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão de recursos para execução do projeto.

Ao Professor João Almir Oliveira pela orientação, profissionalismo, amizade e paciência.

À pesquisadora Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa, pelo apoio e orientação nesses últimos anos.

Aos professores Renato Mendes Guimarães, Édila Vilela de Resende Von Pinho e Maria Laene Moreira de Carvalho, pelos esclarecimentos e auxílio na execução deste trabalho.

Ao pesquisador Antônio Vieira Rodrigues, pelos conselhos e amizade.

Aos funcionários do Laboratório de Sementes, Wilder, Albert, Elza, Dalva e Elenir, pelo auxílio na execução dos experimentos e amizade.

Aos estagiários do Laboratório de Sementes e alunos da Iniciação Científica, por todo o auxílio e dedicação na execução do experimento, além da amizade e do companheirismo.

Aos meus pais, Araken e Irene, pelo amor, incentivo e toda dedicação e por serem os meus exemplos de vida. Obrigada por tudo!

Aos meus irmãos e cunhados, Matheus e Cristiane e Clarissa e Allain, pelo carinho e pela motivação, além das grandes alegrias que me deram: Arthur, Mariana e Pedro. Amo vocês!

Aos meus eternos mestres e amigos, Renata, Marcelo e Arie, pelo incentivo, dedicação, mas principalmente, pela amizade.

Aos amigos, que mesmo distantes, torceram pela realização deste momento, em especial Lara, Mimi, Allan, Nailson, Lucas, Lucrécio e Zezinho.

Aos amigos presentes, que fizeram os meus dias em Lavras mais alegres e suaves, em especial Andréa, Dessa, Fran, Heloísa, Aline e Aline VIP.

A Tiago, pela cumplicidade, paciência, amor e carinho ao longo desses dois anos e meio. Te amo!

À família Figueiredo, pelo incentivo e carinho com que me receberam.

Enfim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização de mais essa etapa.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

A qualidade das sementes pode ser afetada por diversos fatores, dentre os quais se destacam a permeabilidade, a cor e o teor de lignina do tegumento. A influência do tegumento da semente sobre o comportamento fisiológico, diante de condições ambientais e de manejo, deve-se ao fato de se constituir em camada protetora, que limita a parte interna da semente com o meio ambiente, protegendo o embrião contra injúrias mecânicas e da ação de microrganismos e insetos. Neste trabalho objetivou-se avaliar a influência do teor de lignina no tegumento de sementes de diferentes cultivares de soja inoculadas com *Aspergillus flavus* e *Penicillium sp.*, na qualidade física, fisiológica e sanitária, durante o armazenamento. Determinou-se a qualidade inicial, por meio do grau de umidade, teor de lignina, teste de sanidade, germinação, condutividade elétrica, viabilidade pelo teste de tetrazólio e análise ultra-estrutural por microscopia eletrônica de varredura. Utilizando-se o método da restrição hídrica, parte das sementes foi submetida à inoculação artificial com o fungo *Aspergillus flavus*, outra parte com o fungo *Penicillium sp.* e a terceira parte não foi inoculada. As sementes foram armazenadas em câmara fria por 180 dias, sendo submetidas às mesmas avaliações, a cada 60 dias de armazenamento. O grau de umidade sofreu pequenas alterações, durante o período de armazenamento, independente dos tratamentos de inoculação. Pelos resultados do teste de sanidade, verificou-se que a inoculação foi eficiente, com incidência mínima de 85% do fungo nas sementes inoculadas, independente da cultivar e do período de armazenamento. No teste de germinação observou-se tendência de redução da porcentagem de germinação com o aumento do período de armazenamento, para todas as cultivares, independente da inoculação. Pelo teste de condutividade elétrica verificou-se aumento da condutividade com o aumento do período de armazenamento, para todos os tratamentos. Não há interferência do teor de lignina no tegumento das sementes na resistência à incidência do fungo *Aspergillus flavus* e *Penicillium sp.*, mesmo com o armazenamento das sementes.

Palavras-chave: *Glycine max*. Teor de lignina. Fungos de armazenamento.

ABSTRACT

Seed quality can be affected by many factors, among them we can highlight the permeability, color and lignin content of the seed coat. The interference of seed coat in relation to their conduct towards the environmental conditions and management, there is the fact that they constitute a protective layer, that is, which limits the inside of the seed with the environment causing that the embryo is protected from mechanical injury and the action of microorganisms and insects. This work aimed to evaluate the influence of lignin content in the seed coat of seeds of different soybean cultivars inoculated with *Aspergillus flavus* and *Penicillium sp.* in the physical, physiological and sanitary during storage. It was determined by the initial quality of the moisture content, lignin content, sanity, germination, electrical conductivity and viability by tetrazolium test. Some of the seeds have been subjected to artificial inoculation with *Aspergillus flavus*, the method of water restriction, another part by the fungus *Penicillium sp.* By the same method and then stored in cold storage for up to 180 days. The remaining seeds were not subjected to artificial inoculation in order to observe the efficiency of inoculation, and monitor the storage of seeds. At intervals of 60 days were assessed to determine the moisture content, lignin content, health, germination, viability by tetrazolium test and electrical conductivity. The moisture content remained constant throughout the storage period, regardless of the seeds were inoculated or not. The results of the test of sanity can be observed that inoculation was effective, with an incidence of at least 85% of the fungus in inoculated seeds, regardless of cultivar and storage period. In the germination test there is a trend decline in germination percentage with increasing storage period for all cultivars, regardless of inoculation. The electrical conductivity test there is increase in conductivity with increasing storage period for all treatments. No interference of the lignin content in the seed coat in the incidence of resistance to *Aspergillus flavus* and *Penicillium sp.* Even with seed storage.

Keywords: *Glycine max*. Lignin content. Storage fungi.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	Importância da cultura da soja	13
2.2	Sementes de soja	14
2.2.1	Qualidade fisiológica	14
2.2.2	Características morfológicas	15
2.2.3	Teor de lignina	21
2.3	Armazenamento de sementes	23
2.3.1	Deterioração de sementes	24
2.3.2	Efeito dos danos mecânicos	27
2.3.3	Efeitos do ataque por microrganismos	30
3	MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1	Primeiro Ensaio: Características física, fisiológica, sanitária e ultraestrutural de sementes de soja com diferentes teores de lignina	34
3.1.1	Características físicas	36
3.1.2	Qualidade sanitária	36
3.1.3	Qualidade fisiológica	36
3.1.4	Análise ultraestrutural	38
3.2	Segundo Ensaio: Comportamento de sementes de soja com diferentes teores de lignina inoculadas com <i>Aspergillus flavus</i> e <i>Penicillium sp.</i> durante o armazenamento	39
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1	Primeiro Ensaio: Características física, fisiológica, sanitária e ultraestrutural de sementes de soja com diferentes teores de lignina	41
4.2	Segundo Ensaio: Comportamento de sementes de soja com diferentes teores de lignina inoculadas com <i>Aspergillus flavus</i> e <i>Penicillium sp.</i> durante o armazenamento	49
4.2.1	Sementes inoculadas com <i>Aspergillus</i>	49
4.2.2	Sementes inoculadas com <i>Penicillium sp.</i>	65
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	86
6	CONCLUSÕES	88
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
	ANEXOS	105

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja. Na safra 2009/10, a cultura ocupou uma área de 24,2 milhões de hectares, que totalizou uma produção de 75 milhões de toneladas (Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB, 2011). A produtividade média da soja brasileira é de 3106 kg por hectare, chegando a alcançar cerca de 3190 kg/ha no estado de Mato Grosso, o maior produtor brasileiro de soja.

A semente é responsável pela transferência de inovações tecnológicas e dos ganhos genéticos resultantes dos trabalhos de melhoramento, seja ele tradicional ou resultado da engenharia genética. A qualidade da semente, definida como o somatório de todos os atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, é um dos principais fatores na determinação do sucesso de uma cultura (VIEIRA, 1980). Esses atributos são em grande parte reflexos das funções do tegumento da semente de soja, seja a permeabilidade seletiva, cor e teor de lignina (SILVA, 2003).

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 controla as trocas gasosas entre a semente e o ambiente, bem como o processo de embebição de água.

Atualmente os programas de melhoramento genético de soja visam à seleção de genótipos com elevados teores de lignina, 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; MENON, 1974; TAVARES et al., 1987).

Dentre os vários processos pelos quais as sementes de soja passam, o armazenamento assume papel importante, em virtude das condições tropicais e subtropicais do Brasil. É nessa fase que reside uma maior preocupação dos produtores de sementes quanto à preservação da qualidade das mesmas, visando minimizar a velocidade do processo deteriorativo.

Muitos estudos apontam os fungos de armazenamento, principalmente, espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*, como os principais agentes de deterioração das sementes (TERVET, 1945; CHRISTENSEN; KAUFMANN, 1969; NEERGAARD, 1977; DHINGRA, 1985; WETZEL, 1987). BERJAK (1987) cita que, segundo estatísticas da FAO, de 5 a 30% das sementes são perdidas, anualmente, pela atuação desses microrganismos, afetando germinação e vigor.

Sendo assim, neste trabalho objetivou-se avaliar a influência do teor de lignina presente no tegumento de diferentes cultivares de soja sobre a qualidade física, fisiológica e sanitária das sementes inoculadas com *Aspergillus flavus* e *Penicillium sp.*, durante o armazenamento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância da cultura da soja

A soja (*Glycine max*) é uma planta autógama e anual, pertencente à família *Fabaceae*, subfamília *Papilionoideae*, tribo *Phaseoleae*, subtribo *Phaseolinae* (*Glycininae*), gênero *Glycine* L., subgênero *soja* (Moench) F. J. Germ. e à espécie *Glycine max* (L.) Merrill. Foi domesticada pelos chineses há cerca de cinco mil anos e há três mil anos que a cultura se espalhou pela Ásia, onde começou a ser utilizada no consumo humano por seu alto valor alimentício. No final do século XV chegou ao ocidente, mas foi só no início do século XX que passou a ser cultivada comercialmente nos Estados Unidos. A partir de então, houve um rápido crescimento na produção, com o desenvolvimento das primeiras cultivares comerciais (CONWAY, 2003).

Alguns historiadores afirmam que a soja chegou ao Brasil em 1882, outros em 1892, e outros que o grão chegou com os primeiros imigrantes japoneses em 1908. No RS, foi introduzida oficialmente em 1914 enquanto no PR o seu cultivo iniciou-se em 1954. Porém, a expansão da soja no Brasil aconteceu nos anos 70, com o interesse crescente da indústria de óleo e a demanda do mercado internacional. No início o plantio estava concentrado nos estados do sul do país, aproveitando a entressafra da cultura do trigo. Até 1975, toda a produção brasileira de soja era realizada com cultivares e técnicas importadas dos Estados Unidos, onde as condições climáticas e os solos são diferentes do Brasil. Assim, a soja só produzia bem, em escala comercial, nos estados do sul, onde as cultivares americanas encontravam condições semelhantes às de sua origem.

Com a criação de inúmeras outras cultivares, a soja passou a ser plantada, também, em regiões de clima tropical no Brasil (Centro-Oeste,

Nordeste e Norte). A soja viabilizou a implantação de indústrias de óleo, fomentou o mercado de sementes e deu estabilidade à exploração econômica das terras em que antes só existiam matas e cerrados (CONWAY, 2003).

O grão da soja dá origem a produtos e subprodutos utilizados atualmente pela agroindústria de alimentos e indústria química. A proteína de soja dá origem a produtos comestíveis (ingredientes de padaria, massas, produtos de carne, cereais, misturas preparadas, bebidas, alimentação para bebês, confeções e alimentos dietéticos). É utilizado, também, pela indústria de adesivos, nutrientes, alimentação animal, adubos, formulador de espumas, fabricação de fibra, revestimento, papel e emulsão de água para tintas. A soja integral é utilizada pela indústria de alimentos em geral e o óleo cru se transforma em óleo refinado e lecitina, que dá origem a inúmeros outros produtos (CONWAY, 2003).

2.2 Sementes de soja

2.2.1 Qualidade Fisiológica

A qualidade fisiológica de sementes de soja é, em grande parte, influenciada pelo genótipo. Nesse sentido, nos últimos anos, nos programas de melhoramento genético há preocupação em desenvolver materiais com características relacionadas à resistência a doenças e pragas, teores de óleo e proteína e, mais recentemente, teor de lignina no tegumento das sementes (COSTA et al., 2001).

A constituição genética da semente pode influenciar as características de qualidade fisiológica, logo, diferentes cultivares de uma mesma espécie podem ter características endógenas ao maior ou menor vigor, além da longevidade (PRETE; GUERRA, 1999). Caracteres da planta, do legume e da própria

semente, bem como seus efeitos interativos, podem estar correlacionados direta ou indiretamente, com a deterioração das sementes, determinando a resposta diferencial de cada cultivar e seus níveis de tolerância à deterioração das sementes, às condições adversas no campo e até mesmo à colheita mecanizada.

A perda de qualidade no campo é frequente, principalmente durante a fase de maturação, que tem motivado vários pesquisadores a enfatizar a possibilidade do uso da semente de tegumento com determinado grau de impermeabilidade à água (GIGLIOLI; FRANÇA NETO, 1982; PESKE; PEREIRA, 1983; HARTWIG; POTTS, 1987). A desidratação e hidratação cíclica da semente, no campo, são apontadas como uma das principais causas da redução da qualidade fisiológica (VIEIRA et al., 1983; COSTA, 1984; TEKRONY et al., 1984).

2.2.2 Características morfológicas das sementes

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

O tegumento da semente é proveniente dos integumentos do óvulo, e o integumento externo ou secundina dá origem à testa enquanto o integumento interno ou primina origina o tégmen. Por vezes o integumento interno em muitas espécies da família *Fabaceae* tende a desaparecer (ESAU, 1977; 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; NAKAGAWA, 2000); além de

proteção ao embrião de ruptura celular e perda de substâncias intracelulares, durante a embebição (DUKE; 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 epidérmicas em paliçada ou macroesclerídeos), hipoderme (células em ampulheta, ou células pilares ou osteoesclerídeos) e células parenquimatosas (parênquima lacunoso) (GLORIA; GUERREIRO, 2006). Células esclerenquimatosas, chamadas macroesclerídeos formam a camada de células epidérmicas em paliçada, a qual aparece de uma forma contínua por todo o tegumento, com exceção da região do hilo, onde duas camadas de células em paliçada podem ser observadas. Neste caso a camada de células em paliçada mais interna provém do funículo, enquanto a mais externa, do integumento externo do óvulo (EVERT, 2006).

Algumas características da camada de células epidérmicas em paliçada, 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, que pode ser verificado com o uso de corantes especiais, como o azul de metileno (BACIU-MICLAUS, 1970).

A ocorrência de materiais hidrofóbicos na camada de células em paliçada 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 em paliçada, chegando a penetrar entre as paredes celulares, enquanto nas sementes de testa permeável a sua presença pode ser verificada por toda a camada.

As células imediatamente abaixo da camada em paliçada são as células em ampulheta ou hipoderme (CORNER, 1951), que se constitui 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. 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 termo esclerênquima é derivado do grego *skleros*, que significa duro. A característica principal deste tecido é a presença de paredes secundárias espessadas, lignificadas ou não, havendo espessamento homogêneo e regular da parede celular.

O esclerênquima é um tecido de sustentação, presente na periferia ou nas camadas mais internas do órgão, no corpo primário ou secundário da planta. Originado do meristema fundamental, da mesma forma que o parênquima e o colênquima, este tecido faz parte do sistema do corpo primário da planta. As células do esclerênquima, em geral, não possuem protoplasto vivo na maturidade, sendo esta uma das principais diferenças entre este tecido e o colênquima, além da presença de lignina e do espessamento secundário e uniforme das paredes. A parede secundária é composta de celulose, hemicelulose, substâncias pécticas e cerca de 35% de lignina (GLORIA; GUERREIRO, 2006).

O parênquima lacunoso, ou esponjoso, é composto de 6-8 camadas de células, as quais são tangenciais à superfície da testa e possuem parede celular fina. Apresenta células de formato irregular, com projeções laterais, conectadas às células adjacentes, delimitando espaços intercelulares, que podem ter amplitudes variadas. As células do parênquima esponjoso conectam-se com as células do parênquima paliçádico, podendo, neste caso, ter formato diferenciado das demais células esponjosas, bem como estar conectadas a várias células do paliçádico.

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; LERSTEN, 1987).

A espessura da testa de uma semente de soja varia entre 70-100 micrometros, considerando-se as quatro camadas em conjunto e existe variação entre cultivares. Ressalta-se que esta característica física é constante dentro de cada cultivar e é controlada geneticamente (CAVINESS; SIMPSON, 1974).

O alto grau de impermeabilidade de sementes duras em *Phaseolus* seria decorrência das características da camada de células epidérmicas em paliçada (EVERT, 2006). A partir deste apontamento, Agbo et al. (1987) sugeriram que as células em paliçada 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 (em paliçada e ampulheta) poderia estar relacionada à 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 por meio da testa (NOODÉN et al., 1985; CHACHALIS; 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 e em sementes duras eles estão ausentes ou apresentam-se em quantidade bastante reduzida (CALERO, 1979). Em algumas cultivares os poros atravessam a camada paliçada 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), 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, à linha de luz, camadas pécticas duras, substâncias fenólicas (quinonas) na camada paliçádica, conteúdo de cálcio, espessura da testa e o tamanho da abertura da micrópila. Yaklich 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 do legume.

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). Isso despertou o interesse pela utilização de sementes que possuam testa com certo grau de dureza (GIGLIOLI; FRANÇA NETO, 1982; PESKE; PEREIRA, 1983; HARTWIG; 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; POTTS, 1987); reduzida incidência de patógenos transmitidos por sementes (MIRANDA, 1977; HILL et al., 1985; 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; FRANÇA NETO, 1982); maior resistência aos danos mecânicos durante a colheita (FRANÇA NETO; 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; KUENEMAN, 1984).

2.2.3 Teor de lignina

A lignina é um polímero fenólico natural, importante por conferir resistência mecânica, transporte de água e defesa em plantas vasculares.

É uma substância amorfa, presente nas plantas vasculares, formada pela polimerização de vários álcoois, como o p-coumaril, o coniferil e o sinaptil. A ausência de lignina nas células de esclerênquima é rara, mas pode acontecer em algumas espécies. As células do esclerênquima podem manter seu protoplasto ativo, mesmo depois de totalmente diferenciadas; nesse caso, as paredes muito espessadas são ricas em pontuações, situação comum em fibras e nas esclereides (GLORIA; GUERREIRO, 2006).

Em semente de soja, essa substância tem um papel muito importante na qualidade física e fisiológica. O tegumento de semente de soja é muito fino e o teor de lignina presente é muito baixo, que proporciona pouca proteção para a radícula que se situa em uma região muito vulnerável, diretamente abaixo do tegumento.

No melhoramento genético visando a alterações na permeabilidade da testa de sementes de soja, deve-se ter em mente que essa característica está associada a diversos fatores, tais como estruturas presentes na testa (hilo, estrofiolo, micrópila), porosidade, cor e cerosidade (SOUZA; MARCOS FILHO, 2001).

Ressalta-se, porém, que as sementes com testa impermeável apresentam limitações, para que o melhoramento genético possa utilizar essa característica com o intuito de melhorar a qualidade das sementes de soja. Como essa característica é governada por três genes maiores (KILEN; HARTWIG, 1978), a sua expressão poderá sofrer interferência de vários fatores ambientais, como 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; PASCHAL, 1982; HARTWIG; 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 à 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 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, verificaram 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 à 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; 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 à produção de sementes de elevado potencial fisiológico, 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).

2.3 Armazenamento de sementes

A velocidade da perda de viabilidade após a maturidade fisiológica depende das condições ambientais pré e pós - colheita, do nível de danos mecânicos durante a colheita e o beneficiamento e das condições de armazenamento (HARRINGTON, 1972). Para Delouche (1973), a partir da maturidade fisiológica tem-se início o processo de deterioração das sementes. Atrasos na colheita, após o período de maturidade, 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 essas 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; 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; 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; NAKAGAWA, 2000).

A partir do momento que a semente atinge a 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; 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; NAKAGAWA, 2000).

2.3.1 Deterioração das sementes

A deterioração pode ser definida como um processo que envolve mudanças citológicas, bioquímicas e físicas que causam a morte das sementes. O

processo foi caracterizado por Delouche (1975) como inexorável, irreversível e progressivo. Tal processo é determinado por fatores genéticos, ataques de percevejos, condições ambientais no período pós-maturação/pré-colheita, procedimentos de colheita e de beneficiamento, além das condições de armazenamento e transporte.

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; NAKAGAWA, 2000).

Fatores indesejáveis como condições adversas durante o desenvolvimento da semente e na fase de pré-colheita, danos mecânicos, 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; NAKAGAWA, 2000).

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; 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).

As sementes de soja atingem a maturidade fisiológica com 35 a 45% de teor de umidade, quando não é ainda possível a colheita (DELOUCHE, 1975). Todavia, se as condições climáticas forem favoráveis, essa faixa de teor de umidade pode cair rapidamente para 15 a 18% em uma semana apenas.

A constante desidratação e hidratação das sementes, causadas pela alternância de períodos chuvosos e secos, faz com que as mesmas, ainda no campo, sofram constantes alterações no seu teor de umidade, acelerando-se os seus processos de deterioração, que é mais drástico para as cultivares precoces que para as tardias, pois, para as primeiras, a temperatura após a maturação é mais elevada (DELOUCHE, 1975).

A deterioração por umidade, conforme descrita por Moore (1973), Pereira e Andrews (1976) e França Neto (1984) citados por França Neto et al. (1998), resulta da exposição das sementes de soja a ciclos alternados de condições ambientais úmidas e secas na fase final de maturação, antes da colheita. Tais danos apresentam uma maior magnitude, caso ocorram em ambientes quentes, típicos de regiões tropicais e subtropicais.

Sementes com deterioração por umidade apresentam rugas características nos cotilédones, na região oposta ao hilo, ou sobre o eixo embrionário. Frequentemente, tais lesões podem estar associadas com a infecção por certos fungos.

Por outro lado, sementes com elevado teor de água requerem secagem imediata que pode ser feita tanto em secador convencional, usando ar quente, como em silos com sistema de ventilação. Cerqueira et al. (1979) determinaram um prazo máximo de 72 horas de retardamento da secagem para sementes de soja colhidas com 19,1% de teor de umidade, para as condições de Pelotas, RS.

Com teores mais baixos (15 a 17%), as sementes suportam períodos mais longos.

Com relação às sementes de soja, vários critérios devem ser observados, como por exemplo, não empregar temperaturas acima de 43,3°C e umidade relativa abaixo de 40%, evitando-se, dessa maneira, danificações nas células do embrião e quebraduras no tegumento da semente, que facilitam a penetração de microrganismos patogênicos e o ataque de pragas no decorrer do armazenamento (DELOUCHE, 1975; HARRINGTON, 1972).

2.3.2 Efeito de danos mecânicos

Segundo Carvalho e Nakagawa (2000), durante o processo produtivo de qualquer cultura, o dano mecânico é consequência, na sua maior parte, da modernização das atividades agrícolas. As perdas de grãos de soja durante a colheita têm atingido níveis bastante preocupantes, nos últimos anos. Essas perdas podem ser atribuídas a uma série de fatores, especialmente manejo inadequado da lavoura, mau preparo do solo, plantio de cultivares não adequadas, presença de plantas daninhas nas lavouras, retardamento da colheita e, finalmente, a falta de regulagens e manutenção das máquinas colhedoras.

Ainda, segundo os mesmos autores, uma semente pode sofrer danos mecânicos nas máquinas de semeadura ou de colheita e, também, durante o beneficiamento, armazenamento e transporte. Os fatores que controlam o grau de danos mecânicos, em sua maior parte, são a intensidade e o número de impactos sofridos por elas entre outros. A intensidade de danos mecânicos que sofre uma semente é avaliada por seus efeitos sobre sua germinação e seu vigor.

Dentre os fatores mais importantes que determinam a severidade de danos mecânicos sofridos pelas sementes ou grãos, destaca-se o teor de umidade no momento do impacto. Em função do teor de água, o dano mecânico será

classificado em dois tipos: por “quebramento”, a semente sofre esse tipo de injúria quando o teor de água é muito baixo, resultando no rompimento dos tecidos das sementes; ou por “amassamento”, ocorre quando o teor de água é muito alto, pois, em razão dos tecidos serem tenros, as sementes ficam amassadas na região onde ocorreu o impacto. Na prática, pode-se dizer que o dano mecânico por “quebramento” aumenta em intensidade à medida que o teor de água se reduz a valores inferiores a 12-14% e, a por “amassamento”, aumenta a partir de 16-18% (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Ainda segundo os mesmos autores, as sementes exalbuminosas como a soja têm como principal tecido de reserva os cotilédones e, como o tecido cotiledonar é embrionário, torna-se mais suscetível ao dano mecânico, pela exposição do eixo embrionário. Portanto, em sementes arredondadas, a probabilidade de que ocorra o impacto sobre o eixo embrionário é igual à de ocorrer em outra região qualquer da semente. Essa seria uma das possíveis explicações para a alta suscetibilidade das sementes de soja aos danos mecânicos.

Alvarez et al. (1997) e Panobianco et al. (1999) observaram relação direta entre a resistência das sementes a danos mecânicos e os teores de lignina. Também foi observada grande variabilidade genética para a resistência a dano mecânico (CARBONELL; KRZYZANOWSKI, 1995) e para o teor de lignina (CARBONELL; KRZYZANOWSKI, 1995; ALVAREZ et al., 1997). A lignificação do tegumento confere resistência mecânica ao tecido e protege a parede celular de infecções por microrganismos (TAVARES et al., 1987).

Os efeitos dos danos mecânicos sobre a qualidade das sementes ou grãos podem ser subdivididos em dois tipos: efeitos imediatos, os quais ocorrem se houver dano no momento da semeadura. Esse efeito dificilmente será avaliado como problema, porque, na maior parte das vezes, a semente será armazenada e não semeada; e os efeitos latentes, aqueles observados somente após as sementes

danificadas terem permanecido armazenadas no período entre a colheita e a semeadura. Neste caso, a possibilidade dos danos mecânicos terem consequências mais sérias é muito maior. Uma semente cujo tegumento foi rompido torna-se muito mais suscetível à deterioração durante o armazenamento (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Moore (1974) afirma que os efeitos latentes de danos mecânicos são mais graves quando é do tipo “amassamento”. Neste tipo de dano, o volume de tecido não danificado é muito maior do que quando o dano é por “quebramento”, então, o tecido afetado serve como um “centro de infecção” para o resto da semente. O ponto onde o tegumento se rompeu serve como porta de entrada para fungos de armazenamento, os quais teriam, possivelmente, papel na deterioração da semente. Tendo em conta que, entre as funções que o tegumento desempenha está a de regular a velocidade de absorção de água, poder-se-ia esperar que essa função fosse anulada ou, pelo menos, realizada com menor eficiência, quando uma pancada sobre a semente rompesse sua integridade.

O efeito latente é mais acentuado do que o imediato porque o dano reduz, durante o armazenamento, o vigor da semente. Consequentemente, o nível de energia na semente, no momento em que é posta no solo para germinar, é mais baixo do que numa semente recém-danificada. Em ambos os casos, as sementes vão mobilizar energia com o objetivo de cicatrizar o tecido; no caso, porém, da semente injuriada e armazenada (efeito latente) é bem mais provável que, após cicatrizar o tecido, a energia remanescente não seja suficiente para que o processo de germinação se complete. Às vezes, a redução do vigor durante o armazenamento é tão acentuada que a energia remanescente não chega a ser suficiente sequer para cicatrizar o tecido danificado (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

2.3.3 Efeitos do ataque por microrganismos

Os patógenos associados às sementes causam danos diretos às plantações, redução do estande, debilitação das plantas e a criação de fontes de inóculo primário para o desenvolvimento de epidemias, também provocam danos indiretos, como a introdução de patógenos em áreas isentas (BAYER, 1996).

A interação dos fatores ambientais, de temperatura e de umidade relativa do ar, com a umidade dos grãos e danos mecânicos pode favorecer a atividade de fungos de armazenamento, como os do gênero *Aspergillus*, que promovem alterações bioquímicas, degenerativas e irreversíveis das sementes (PAIVA et al., 1995).

Os fungos de maior incidência são *Aspergillus spp.* e *Penicillium spp.*, que têm sido associados às sementes de baixa qualidade fisiológica (MARIOTTO et al., 1982). Espécies de *Aspergillus* dos grupos *flavus* e *niger* têm causado decréscimo de germinação (HARMON; PFLEGER, 1974; MCLEAN et al., 1984) e, assim como *Penicillium spp.*, têm promovido lesões nas plântulas, levando ao menor desenvolvimento dessas (BACKMAN; HAMMOND, 1976, ITO et al., 1992). Estes fungos podem contaminar e infectar as sementes no campo (ROSSETTO et al., 2003) e após a colheita (ITO et al., 1992).

Amaral e Usberti (1983) detectaram *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium spp.* e *Rhizopus spp.* em sementes de amendoim armazenadas, com ou sem fungicida, tendo as sementes tratadas apresentado infestação menor que as não tratadas. Lago et al. (1976) armazenaram sementes de amendoim durante 21 meses, em sacos plásticos de 0,15mm de espessura e tratadas com diversos fungicidas, constataram que sementes não tratadas deterioraram-se rapidamente, atingindo 27% de germinação aos seis meses.

Em sementes de amendoim, Usberti e Amaral (1999) constataram que para a invasão desses fungos, os teores de água das sementes devem ser maiores que 7% (base úmida).

Diversas espécies de *Aspergillus* ocorrem em sementes de soja, porém a mais frequente é *Aspergillus flavus*. Tem sido observado que, em sementes colhidas com teores elevados de umidade, um retardamento do início da secagem por alguns dias é suficiente para reduzir sua qualidade, por causa da ação desse fungo. Quando encontrado em alta incidência, pode reduzir o poder germinativo das sementes.

Os produtos armazenados grãos e sementes podem ser o alvo preferido de alguns fungos, pois servem como substratos apropriados ao desenvolvimento de algumas espécies.

O ataque de fungos pode afetar a qualidade fisiológica com redução da germinação e vigor de sementes e liberar micotoxinas em grãos, causando intoxicações (micotoxicoses) em animais e humanos (POPINIGIS, 1985; MENTEN, 1995; PEREIRA, 1995; MALOZZI; CORREA, 1998).

O gênero *Aspergillus* constitui-se de fungos toxigênicos, causadores de deterioração em grãos e sementes, são saprófitos cosmopolitas de disseminação fácil por seus esporos leves e secos. São xerofílicos ou xero tolerantes, ou seja, podem crescer em baixo potencial de água, sendo os primeiros a se desenvolverem nas condições de baixa umidade dos grãos e sementes, assim, facilitando o desenvolvimento de outros gêneros que necessitam mais umidade (NEERGAARD, 1979; BERJAK, 1987; MILLS, 1983; GRIFFIN, 1994; LUZ, 1995; PUZZI, 2000).

Paiva et al. (1995) estudaram a ação de *Aspergillus flavus* sobre sementes de soja, cv. CAC-1 com dois níveis de teor de umidade (12 e 15%) as quais foram inoculadas com esporos de dois isolados de *A. flavus* e submetidas ao teste de envelhecimento acelerado, expondo-as a 42°C e 95% de umidade

relativa por 0, 24, 48 e 72 horas. Considerando a inoculação ou não das sementes, foram obtidas respostas altamente significativas para todos os testes, demonstrando o potencial de deterioração do isolado utilizado cujo inóculo cobriu parcialmente as sementes nos tratamentos de 24 horas e totalmente nos tratamentos de 48 e 72 horas. Diferenças altamente significativas foram detectadas entre todos os tratamentos para os testes porcentagem de germinação, e entre o tratamento de 72 horas e os demais para nível de vigor em tetrazólio, avaliação de estande inicial e velocidade de emergência.

Henning et al. (1985) estudaram a qualidade de sementes de soja “Tropical” armazenadas com 17 e 9% de teor de umidade em câmara fria (12-15°C; 65-70% U.R.) e ambiente natural, em Teresina/PI. De maneira geral, o teor de umidade das sementes decresceu durante a armazenagem estabilizando-se em torno de 8%. A qualidade fisiológica determinada pelos testes de germinação padrão, envelhecimento precoce e tetrazólio (germinação e vigor) foi sempre superior para sementes armazenadas em câmara fria. Após 45 dias de armazenagem em ambiente natural, independentemente do seu teor natural de umidade, as sementes já apresentavam sensíveis decréscimos na sua qualidade. Paralelamente, observou-se acentuada elevação nos índices de deterioração por umidade, determinados pelos testes de tetrazólio e aumento na incidência de *Aspergillus* spp. Em câmara fria não houve proliferação desse fungo observando-se apenas ligeiro aumento nos índices de deterioração por umidade. A análise sanitária revelou baixos índices de *Phomopsis* sp., *Colletotrichum dematium* var. *truncata*. Com relação à *Cercospora kikuchii* e *Fusarium semitectum*, observou-se que os mesmos perderam sua viabilidade no armazenamento em ambiente natural, porém foram preservados em câmara fria.

Já o *Penicillium* é menos frequente que *Aspergillus* spp., porém ocorre geralmente em semente de soja de baixa qualidade. O *Penicillium* sp. multiplica-se vegetativamente por conídios produzidos em cadeia em conidióforos que se

ramificam na extremidade, lembrando uma vassoura. Estes conídios, após disseminados, produzem novo micélio (KIMATI et al., 1978).

A sua forma teleomórfica pertence à família Trichocomaceae, ordem Eurotiales, Subclasse Eurotiomycetidae, Classe Eurotiomycetes, Divisão Ascomycota, Reino Fungi (INDEX FUNGORUM, 2010). Os gêneros *Erotium* sp., *Sartorya* sp. e *Emmerilia* sp. pertencem à família do Eurotiaceae e representam os genes mais importantes da fase sexual. As espécies de *Penicillium* sp. têm fases teleomórficas dos gêneros *Talaromyces* sp. e *Eupenicillium* sp. (KIMATI et al., 1978).

Existem registrados cerca de 1107 espécies, variedades e *formae speciales* de táxons pertencentes ao gênero *Penicillium* sp. presentes e descritos em literatura. Foi observado 182 variedades e duas *formae speciales* associadas ao gênero (Index Fungorum, 2010). Dentre 2140 registros de ocorrência do hospedeiro que apresentava em seu tecido *Penicillium* sp., cerca de 90 registros sobre a cultura do milho (*Zea mays* L.) e 30 na noqueira-pecã (*Carya illinoensis* K). E dentre as várias espécies de citros a que mais apresentou hospedeiros foi o *Citrus* sp. Cerca de 40 espécies de *Penicillium* sp. foram registradas em hospedeiros no Brasil (INDEX FUNGORUM, 2010; EMBRAPA, 2010).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório Central de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura e nos Laboratórios de Patologia de Sementes e de Microscopia Eletrônica do departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. O projeto foi conduzido em dois ensaios distintos, relacionados abaixo.

3.1 Primeiro Ensaio: Características físicas, fisiológicas, sanitárias e ultraestruturais de sementes de soja com diferentes teores de lignina

Foram utilizados lotes de sementes de soja com diferentes teores de lignina, pertencentes às cultivares Silvania RR, Valiosa, Conquista, Celeste, BRS 245 e BRS 247.

As sementes de todas as cultivares foram produzidas na área experimental da UFLA, em Latossolo Roxo distroférico, fase cerrado, no período de abril a agosto de 2007. De acordo com a classificação de Koppen, a região Sul de Minas Gerais apresenta clima tipo Cwa (OMETO, 1981). Os dados relativos à temperatura, umidade relativa e precipitação pluviométrica, registrados na Estação Climatológica Principal de Lavras (MG) são apresentados na Figura 1.

A adubação de semadura foi realizada de acordo com a análise de solo e as interpretações segundo Riberiro et al. (1999). As sementes foram tratadas com o fungicida Vitavax Thiram 200 CS, na dosagem de 250 ml/100kg de sementes, sendo em seguida inoculadas com produto comercial turfoso, de maneira a garantir população mínima de 1.200.000 bactérias/semente. Por ocasião do desbaste, manteve-se a densidade de 16 plantas por metro linear, sendo os tratos culturais, quando necessários, realizados segundo recomendações para a cultura.

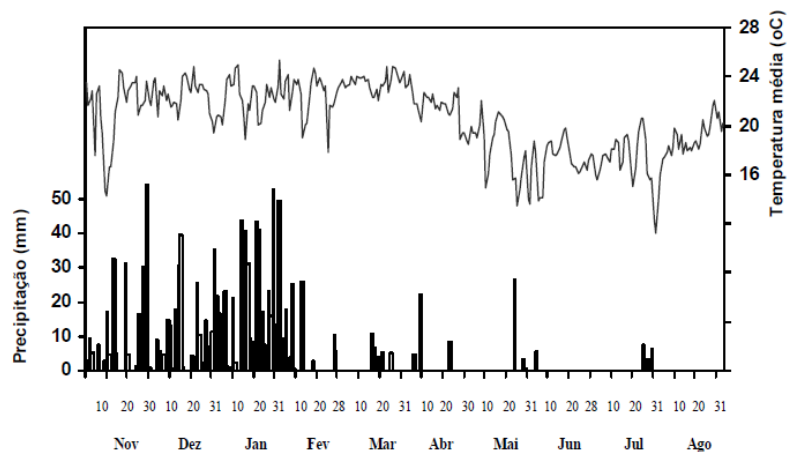


Figura 1 Variação diária da temperatura média do ar e pluviometria de novembro de 2006 a agosto de 2007. Fonte: ESTAÇÃO CLIMATOLÓGICA PRINCIPAL DE LAVRAS – MG.

As sementes foram colhidas manualmente, quando as plantas se encontravam entre os estádios reprodutivos R7 e R8 (FEHR; CAVINESS, 1977) e, após trilha manual, foram secadas à sombra até que atingissem teor de água próximo a 13% e foram armazenadas em câmara fria (10°C e 40% UR).

Em seguida, foi feita a determinação do perfil inicial das sementes, avaliando-se teor de água, teor de lignina, avaliação da qualidade fisiológica, sanitária e análise ultra-estrutural.

Este ensaio foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. As análises estatísticas foram realizadas, utilizando-se o software Sisvar® (FERREIRA, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 5\%$).

3.1.1 Características físicas

Teor de água das sementes: determinado pelo método da estufa a 105°C por 24 horas, sendo utilizadas duas repetições de 50 sementes, por tratamento. Os resultados foram expressos em porcentagem.

Teor de lignina no tegumento: para facilitar a separação do tegumento do embrião da semente de soja, as sementes foram imersas em água, por aproximadamente 12 horas. Após a remoção dos tegumentos, esses foram colocados para secar em estufa previamente regulada à temperatura de 55°C, por 48 horas. Posteriormente, os tegumentos foram triturados em moinho de bola, com o objetivo de obter um pó bastante fino. A lignina foi quantificada em duas repetições de 0,5g de tegumento para cada cultivar, pelo método do permanganato de potássio (VAN SOEST; WINE, 1968) e os resultados expressos em porcentagem.

3.1.2 Qualidade sanitária

Teste de sanidade (Blotter Test): as sementes foram incubadas em placas de Petri de 15 cm, contendo três folhas de papel de filtro umedecidas com solução de 2,4 diclorofenoxiacetato de potássio (2,4-D) a 5 ppm. Foram utilizadas 25 sementes de cada tratamento por placa, num total de oito repetições. As placas foram mantidas em sala de incubação a 20°C sob fotoperíodo de 12 horas, onde permaneceram por sete dias, quando foram avaliadas quanto à presença dos principais patógenos da cultura da soja (MANUAL DE ANÁLISE SANITÁRIA DE SEMENTES, 2009).

3.1.3 Qualidade fisiológica

Teste de germinação: avaliado segundo as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009), por meio da semeadura de 200 sementes por tratamento, divididas em quatro repetições de 50 sementes, em rolos de papel

germitest umedecidos com água. Esses rolos foram mantidos em germinador a 25°C por sete dias, quando foi realizada a avaliação. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Teste de tetrazólio: quatro repetições de 25 as sementes foram pré-condicionadas entre folhas de papel germitest, umedecidas com água destilada 2,5 vezes o seu peso, por um período de 16 horas a 25°C. Para a avaliação da qualidade, as sementes foram colocadas em copos plásticos, totalmente submersas em solução de tetrazólio na concentração de 0,075% e, em seguida, foram mantidas em BOD a 25°C, durante 150 a 180 minutos. Ao alcançarem o padrão de coloração, as sementes foram retiradas da estufa, lavadas em água comum e mantidas submersas em água até o momento das avaliações, realizadas conforme critérios descritos por França Neto et al. (1998).

Condutividade elétrica: realizada em quatro repetições de 50 sementes por tratamento, sendo as sementes pesadas com precisão de duas casas decimais e, em seguida, colocadas em copos plásticos descartáveis com 75mL de água deionizada. Após 24 horas de embebição à temperatura de 25°C, a condutividade elétrica foi determinada com auxílio de um condutivímetro e os resultados expressos em $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, de acordo com o método descrito por Krzyzanowski et al. (1999).

Teste de emergência em bandeja: a semeadura foi realizada em bandejas plásticas contendo como substrato solo e areia na proporção 2:1. Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento. Após a semeadura, as bandejas foram mantidas em câmara de crescimento vegetal a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Irrigação foi realizada a intervalos de dois dias. A partir da emergência da primeira plântula foram realizadas avaliações diárias, computando-se o número de plântulas emergidas até a estabilização. Foram consideradas as porcentagens de plântulas normais aos 14 dias.

Correlação fenotípica: a estimativa da correlação fenotípica entre o teor de lignina e os parâmetros utilizados para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes foi determinada entre os caracteres dois a dois, pela expressão proposta por Falconer e Mackay (1996):

$$r(xy) = \frac{COV_{xy}}{\sqrt{\sigma_x^2 \sigma_y^2}}$$

em que:

$r(xy)$: correlação fenotípica entre os caracteres x e y .

$COV[x,y]$: estimativa da covariância fenotípica entre os caracteres x e y .

$\sqrt{\sigma_x^2 \sigma_y^2}$: variância fenotípica entre os caracteres x e y obtidas a partir das análises de variância estrutural.

3.1.4 Análise ultraestrutural

Microscopia eletrônica de varredura: os tegumentos foram retirados das sementes e cortados na presença de nitrogênio líquido. Os tegumentos foram colocados em fixador primário Karnovsky modificado (Gluteraldeído 2,5%, Formaldeído 2,5% em tampão Cacodilato de sódio 0,05 M pH 7,2 e $CaCl_2$ 0,001 M), onde permaneceram por 48 horas. Para a avaliação da espessura das camadas das células paliçádicas e das células em ampulheta, os tegumentos foram colocados em glicerol por 30 minutos e depois cortados transversalmente com bisturi em nitrogênio líquido para subsequente série de três lavagens de 10 minutos em tampão Cacodilato de sódio 0,05 M e posterior fixação secundária em tetróxido de ósmio 1% (3 gotas/amostra) em tampão Cacodilato 0,05 M pH 7,2, por 1 hora. Após a segunda fixação, os tegumentos foram lavados em água destilada por três vezes e submetidos à desidratação em série de acetona. O tempo de exposição dos tegumentos às soluções foi de 10 minutos para cada concentração de acetona, em ordem crescente de concentração (25%, 50%, 75%,

90% e 100%). Uma vez desidratado, o material foi submetido à secagem ao ponto crítico no secador CPD 030 e posterior banho de ouro no evaporador SCD 050. A visualização das amostras para determinação da espessura das camadas das células paliádicas e das células em ampulheta foi feita em microscópio eletrônico de varredura LEO Evo 40 (ALVES, 2004). Para a análise da espessura das respectivas camadas de células, empregou-se o delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott (1974) a 5% de probabilidade.

3.2 Segundo Ensaio: Armazenamento de sementes de soja com diferentes teores de lignina inoculadas com *Aspergillus flavus* e *Penicillium*

As sementes de soja das cultivares Sylvania RR, Valiosa, Conquista, Celeste, BRS 245 e BRS 247, foram inicialmente inoculadas com *Aspergillus flavus* e *Penicillium sp.*, isoladamente, por intermédio da técnica de restrição hídrica.

Para a inoculação, utilizou-se o meio de cultura básico BDA (extrato de 200g de batata, 20g de dextrose e 20g de ágar), ao qual foi adicionado o soluto manitol ajustado a -1,0 MPa. A concentração para o preparo dos meios, para este potencial hídrico, foi obtida por meio do software SPPM (MICHEL & RADCLIFFE, 1995). Após a autoclavagem, 150 ml do meio de cultura, contendo manitol foi vertido em bandeja plástica, contendo como substrato três folhas de papel tipo germitest esterilizadas, previamente umedecidas em água com potencial osmótico de -1,0 MPa. Com uma alça de Drigalsky, foi feita a raspagem da colônia pura do fungo, obtendo-se, desta maneira, uma suspensão de conídios + micélio, de onde foi retirada uma alíquota e transferida para o substrato. As bandejas, cobertas com plástico transparente, foram colocadas em câmara com temperatura de 20°C e fotoperíodo de 12 horas por cinco dias. Em seguida as sementes de soja foram distribuídas sobre a colônia do fungo em

camada única. Ainda, para se ter certeza da infecção das sementes, foi borrifada uma suspensão de conídios à concentração de 1×10^6 sobre a camada única de sementes descrita anteriormente. Após a inoculação, as bandejas retornaram à câmara de 20°C com fotoperíodo de 12 horas onde, nessa fase, permaneceram por 48 horas. Como testemunha parte das sementes, foi espalhada sobre o mesmo meio de cultura, porém sem a inoculação do fungo, permanecendo pelo mesmo período. Em seguida as sementes foram retiradas e colocadas para secar ao ambiente. Após atingir próximo de 12% de umidade essas foram embaladas em sacos de papel e armazenadas em câmara fria (10°C , 50% de UR), por período de 180 dias.

Durante o armazenamento, as sementes inoculadas e não inoculadas foram avaliadas a cada 60 dias, utilizando as mesmas determinações descritas para o primeiro ensaio.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial $6 \times 4 \times 2$ (6 cultivares $\times$ 4 períodos de armazenamento $\times$ com e sem inoculação). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Sisvar® (FERREIRA, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 5\%$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Primeiro Ensaio: Características físicas, fisiológicas, sanitárias e ultraestruturais de sementes de soja com diferentes teores de lignina

Os resultados obtidos na determinação do grau de umidade das sementes de diferentes cultivares de soja não foram submetidos à análise estatística e estão apresentados na Tabela 1, onde se observou baixa variação entre as cultivares, sendo esta variação menor que 1%. Os valores observados encontravam-se na faixa aceitável de armazenamento de sementes de soja, que varia entre 11-13% de umidade.

Tabela 1 Grau de umidade (%U) das sementes de diferentes cultivares de soja.

Cultivar	%U
Silvania	11,30
Valiosa	11,25
Celeste	11,18
Conquista	11,48
BRS 245	10,87
BRS 247	11,23

Pelos resultados do teor de lignina do tegumento das sementes (Tabela 2), verifica-se que houve diferença significativa entre as cultivares e que a cultivar Silvania foi a que obteve maior teor de lignina (0,446 %g), sendo considerada, neste trabalho como de alto teor, enquanto os valores observados para as cultivares Valiosa e Conquista as classificaram como sendo sementes de médio teor de lignina (0,309 e 0,294 %g, respectivamente). Nas cultivares BRS 247, BRS 245 e celeste foram obtidos os menores teor de lignina (0,199, 0,192 e 0,177 %g, respectivamente) sendo estas consideradas de baixo teor de lignina.

Os resultados de teores de lignina presentes nos tegumentos das cultivares de soja, utilizadas neste trabalho, estão de acordo com aqueles

observados anteriormente por Alvarez et al. (1997). Valores, também, semelhantes foram encontrados por Gris (2009) e, nas condições do ensaio, os valores de lignina se situaram entre 0,17 e 0,30%, sendo os menores valores associados às cultivares BRS245 e BRS247 (0,17 e 0,20% respectivamente) e, os maiores, às cultivares Silvania e Valiosa (0,30 e 0,27%, respectivamente).

Em soja, diferenças nos teores de lignina entre tegumentos de sementes têm sido observadas por diversos autores (TAVARES et al., 1987; CARBONELL et al., 1992; ALVAREZ, 1994; CARBONELL; KRZYZANOWSKI, 1995; PANOBIANCO, 1997; MENEZES, 2008).

Tabela 2 Teor de lignina das sementes de diferentes cultivares de soja.

Cultivar	Teor de lignina (g%)
Silvania	0,446 a
Valiosa	0,309 b
Conquista	0,294 b
BRS 247	0,199 c
BRS 245	0,192 c
Celeste	0,177 c

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

Na avaliação da qualidade sanitária, foi observada a incidência dos fungos *Cladosporium*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium sp.*, *Phomopsis* e *Cercospora*. Para todas as cultivares a maior incidência foi do fungo *Aspergillus*, seguida do *Penicillium*, que são os principais fungos associados ao armazenamento de sementes. Nas cultivares Silvânia, Celeste e na BR 247 foram observados os maiores percentuais de contaminação pelo fungo *Aspergillus* (Figura 2).

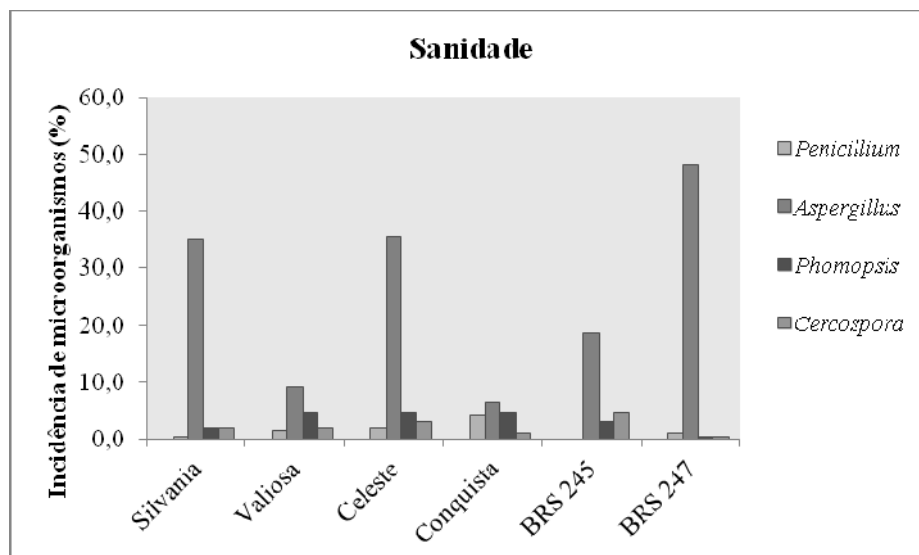


Figura 2 Incidência de fungos obtidos no Blotter Test para as sementes das diferentes cultivares de soja.

Mesmo em sementes de alta qualidade, muitos patógenos, principalmente fungos, podem estar associados às sementes afetando a germinação e o vigor das plântulas, resultando em reduções da produtividade das plantas (SINCLAIR, 1991).

Pelos resultados das análises de variância dos dados da qualidade fisiológica das sementes, houve diferenças significativas entre as cultivares apenas para as variáveis germinação e emergência (Tabela 1A). Os resultados obtidos nos testes de tetrazólio e condutividade elétrica não apresentaram diferenças significativas entre as cultivares.

No teste de germinação (Tabela 3) foi observada variação de 11 % na porcentagem de germinação. Nas cultivares de alto e médio teor de lignina, Silvania, Valiosa e Conquista foram observados os menores percentuais, enquanto que nas de baixo teor foram observados os maiores valores.

Foi observado resultado semelhante para o teste de emergência (Tabela 3), tendo a cultivar Conquista novamente a menor porcentagem de emergência (78%) e as cultivares Silvania, BRS 245 e BRS 247 as maiores (94%).

Tabela 3 Avaliação da qualidade fisiológica das sementes das seis cultivares de soja: germinação (G), emergência (E), tetrazólio (TZ) e condutividade elétrica (C.E.).

Cultivar	G (%)	E (%)	TZ (%)	CE ($\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$)
Silvania	89,0 b	90,0 a	95,0 a	63,5 a
Valiosa	88,0 b	84,0 b	98,0 a	58,4 a
Conquista	87,0 b	78,0 c	94,0 a	59,1 a
BRS 247	93,0 a	94,0 a	95,0 a	52,7 a
BRS 245	98,0 a	94,0 a	97,0 a	57,9 a
Celeste	95,0 a	87,0 b	95,0 a	53,8 a
C.V. (%)	4,53	4,28	3,44	9,20

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

No teste de tetrazólio não foram observadas diferenças quanto à viabilidade das sementes entre as cultivares estudadas, tendo as cultivares apresentado valores entre 94% e 98% (Tabela 3).

Para os dados de condutividade elétrica (Tabela 3), observa-se também que não houve diferenças significativa entre as cultivares, tendo estas apresentado valores entre 52,7 e 63,5 $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$.

De acordo com Vieira e Krzyzanowski (1999), o valor padrão de condutividade a ser considerado, para sementes de soja de média a alta qualidade, deve ser de 70-80 $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$. Os valores de condutividade elétrica encontrados neste trabalho foram inferiores ao padrão referido, evidenciando o bom desempenho das cultivares, que também pode ser explicado pelas condições favoráveis durante o processo de produção das sementes.

Em alguns trabalhos a alta qualidade fisiológica de sementes de soja tem sido relacionada com o alto teor de lignina presente nos tegumentos (PANOBIANCO et al., 1999).

Na presente pesquisa foi avaliada a correlação fenotípica entre o teor de lignina e as variáveis utilizadas na avaliação da qualidade das sementes. Houve correlação baixa e negativa para o teor de lignina e a germinação de sementes (-0,54), tetrazólio (-0,06) e emergência (-0,25), não havendo correlação fenotípica entre esses fatores. No entanto, correlação positiva foi observada apenas entre o teor de lignina e a condutividade elétrica (0,55), sugerindo que quanto maior o teor de lignina maior a quantidade de solutos lixiviados, indicando menor qualidade fisiológica das sementes.

Baldoni (2010), estudando sementes de soja com diferentes teores de lignina, também, observou correlação baixa e negativa entre o teor de lignina e os parâmetros avaliados. No entanto, foram observadas por Menezes et al., (2009) correlações positivas entre o teor de lignina e a velocidade de germinação de sementes.

Microscopia eletrônica de varredura

Além do teor de lignina, a espessura do tegumento, caracterizada pelas espessuras das camadas de células em paliçada e células em ampulheta, também pode estar associada à qualidade fisiológica das sementes.

Pelos resultados das análises de variância dos dados de microscopia eletrônica de varredura das sementes, houve diferenças significativas entre as cultivares para todas as variáveis analisadas (Tabela 1A)

Os dados de espessura das camadas de células em ampulheta e em paliçada do tegumento das sementes estão apresentados na Tabela 4.

Maiores espessuras das camadas de células em paliçada e em ampulheta e do conjunto de ambas foram observadas em tegumentos de sementes das

cultivares Valiosa e Conquista, consideradas de médio teor de lignina (Tabela 4). Por meio das análises ultraestruturais obtidas por microscopia de luz, Menezes et al. (2009) observaram que a lignina é depositada nessas duas camadas.

Tabela 4 Teor de lignina (TL) e espessura das camadas de células em paliçada (CP), células em ampulheta (CA) e do conjunto de células em paliçadas e em ampulhetas (CPA) das sementes de soja, obtidos por microscopia eletrônica de varredura.

Cultivar	TL (%g)	CP (μm)	CA (μm)	CPA (μm)
Silvania	0,446 a	34,5 c	31,8 b	66,3 b
Valiosa	0,309 b	41,8 a	47,8 a	89,5 a
Conquista	0,294 b	42,2 a	46,4 a	88,6 a
BRS 247	0,199 c	33,3 c	19,6 d	52,9 c
BRS 245	0,192 c	31,7 c	23,8 c	55,5 c
Celeste	0,177 c	38,4 b	30,9 b	69,3 b
CV		4,81	6,41	4,51

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

Comparando-se os resultados observados no teste de condutividade elétrica em sementes das cultivares Silvania e Conquista com os dados de teor de lignina e da espessura das camadas paliçadas e em ampulheta, onde a lignina está presente, embora não havendo diferenças significativas, parece existir relação entre os dados de condutividade elétrica, com maior lixiviação de exsudatos e o maior espessamento das camadas do tegumento. Enquanto que para as cultivares BRS 245 e BRS 247 foram observados menor espessamento das camadas e menor lixiviação de exsudatos. Resultados divergentes daqueles obtidos por Baldoni (2010) ao observar que sementes da cultivar Doko com maior espessamento dessas camadas apresentou menor lixiviação, enquanto que na cultivar Silvania foi observado alto valor de condutividade elétrica e menores

valores de espessura das camadas em ampulheta e do conjunto de células em paliçada e em ampulheta.

Assim, infere-se que a restrição à absorção de água pode estar associada à espessura das camadas em referência. Cavariani et al. (2009), avaliando a relação entre a velocidade de hidratação e a espessura e o teor de lignina do tegumento de sementes de soja, verificaram que a espessura do parênquima lacunoso relacionou-se significativamente com a velocidade de hidratação das sementes.

Segundo Silva (2003), o parênquima lacunoso possui de seis a oito camadas de células e no processo de absorção a água teria que percorrer uma distância maior pela camada mais espessa de células.

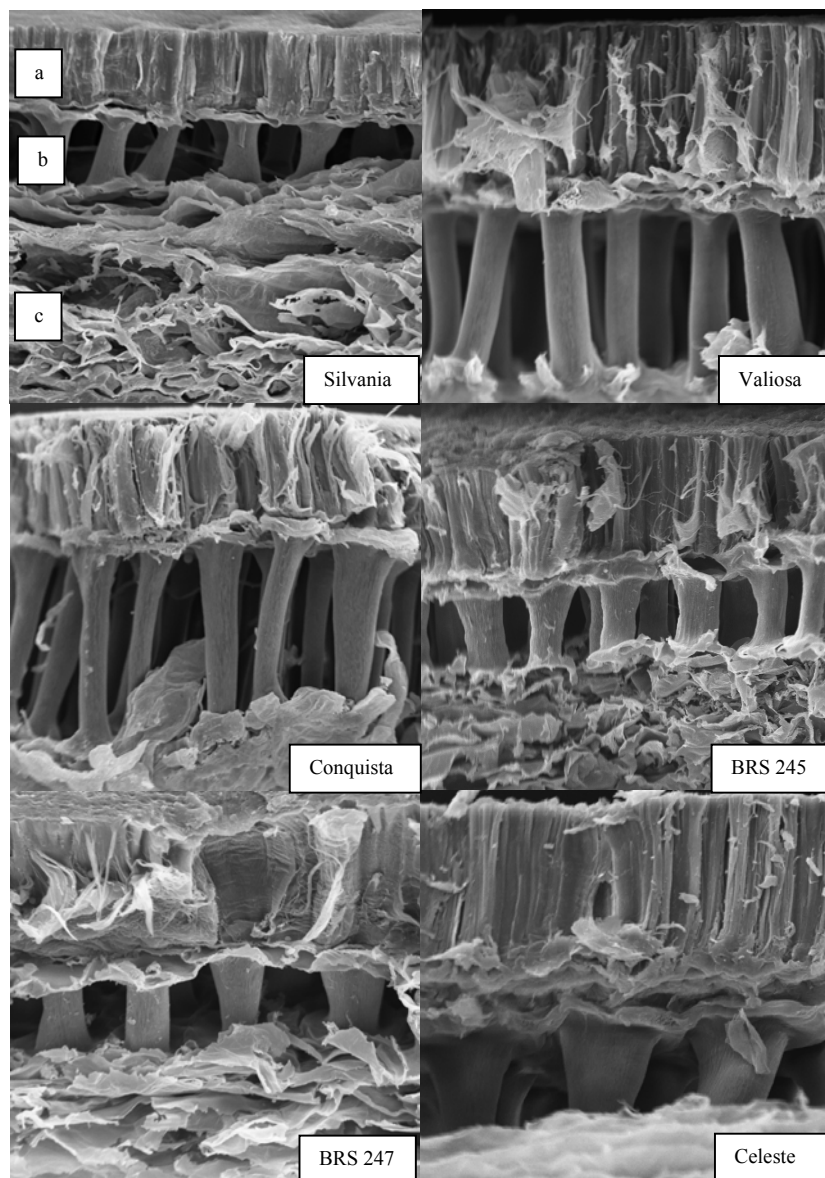


Figura 3 Perfil do tegumento de semente de soja de diferentes cultivares, obtido por Microscopia Eletrônica de Varredura: a) camada de células paliçádicas; b) camada de células em ampulheta e; c) parênquima lacunoso.

4.2 Segundo Ensaio: Qualidade de sementes de soja com diferentes teores de lignina inoculadas com *Aspergillus flavus* e *Penicillium* sp. durante o armazenamento.

4.2.1 Sementes inoculadas com *Aspergillus*

As médias dos resultados obtidos na determinação do grau de umidade das sementes de soja com diferentes teores de lignina, submetidas ou não à inoculação artificial com *Aspergillus*, armazenadas por até 180 dias, não foram submetidas à análise estatística e estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 Grau de umidade (%U) das sementes de diferentes cultivares de soja sem inoculação e sementes submetidas à inoculação artificial com *Aspergillus flavus*, armazenadas por 0, 60, 120 e 180 dias

Período de Armazenamento (dias)	0		60		120		180	
Cultivar	CI	SI	CI	SI	CI	SI	CI	SI
Silvania	9,66	9,54	8,67	8,65	9,44	9,21	9,71	9,59
Valiosa	9,17	9,12	9,79	9,45	9,54	9,52	9,12	9,11
Celeste	9,76	9,58	10,92	10,83	9,72	9,67	10,06	10,03
Conquista	10,56	10,22	9,20	9,12	10,05	9,98	9,87	9,86
BRS 245	10,78	10,76	9,33	9,23	9,18	9,17	10,43	10,39
BRS 247	10,68	10,5	10,55	10,46	10,56	10,41	10,07	10,02

*CI – com inoculação; SI – sem inoculação.

Observa-se que a umidade das sementes de soja permaneceu praticamente inalterada, durante o período de armazenamento, independentemente da cultivar e de ter sido ou não submetida à inoculação artificial com o fungo *Aspergillus* sp (Tabela 5). Isso provavelmente seja em

razão das sementes estarem armazenadas em condições controladas com baixa temperatura e baixa umidade relativa.

Pelos resultados da Tabela 6, observa-se que o teor de lignina do tegumento da semente diferiu significativamente entre as cultivares e não houve alteração significativa durante o período de armazenamento por até 180 dias (Tabela 2A). Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Gris et al (2010) e por Krzyzanowski et al. (2008), pois eles também verificaram que o teor de lignina não foi alterado com o período de armazenamento. Os resultados do teor de lignina, presentes nos tegumentos das cultivares, estão de acordo com aqueles observados anteriormente por Alvarez et al. (1997).

Tabela 6 Teor de lignina (g%) das sementes de diferentes cultivares de soja, submetidas à inoculação artificial com *Aspergillus flavus* e armazenadas por até 180 dias.

Período de Armazenamento (dias) /Cultivar	Teor de lignina (g%)			
	0	60	120	180
Silvania	0,446 aA	0,443 aA	0,442 aA	0,442 aA
Valiosa	0,307 bA	0,306 bA	0,306 bA	0,304 bA
Conquista	0,292 bA	0,290 bA	0,290 bA	0,288 bA
BRS 247	0,199 cA	0,196 cA	0,195 cA	0,195 cA
BRS 245	0,192 cA	0,189 cA	0,188 cA	0,188 cA
Celeste	0,176 cA	0,172 cA	0,172 cA	0,171 cA

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A estabilidade dos teores de lignina presentes nos tegumentos das diferentes cultivares de soja, durante o armazenamento, pode ser explicado pela insolubilidade e a complexidade do polímero da lignina. Essas características

tornam a lignina resistente à degradação pela maioria dos microrganismos (CAMPBELL; SEDEROFF, 1996).

Para o teor de lignina (Tabela 6), observou-se que nas cultivares Silvania, Valiosa e Conquista foram obtidos teores mais elevados, sendo consideradas como sementes de mais alto teor de lignina, enquanto que as cultivares Celeste, BRS 247 e BRS 245 tiveram menores valores, sendo estas consideradas de baixo teor de lignina.

Valores semelhantes foram encontrados por Gris (2008) e, nas condições do ensaio, os valores de lignina se situaram entre 0,17 e 0,30%, sendo os menores valores associados às cultivares BRS 245 e BRS247 (0,17 e 0,20% respectivamente) e os maiores, às cultivares Silvania e Valiosa (0,30 e 0,27%, respectivamente).

Em soja, diferenças nos teores de lignina em tegumentos de sementes têm sido observadas por diversos autores (TAVARES et al., 1987; CARBONELL et al., 1992; ALVAREZ, 1994; CARBONELL; KRZYZANOWSKI, 1995; PANOBIANCO, 1997; MENEZES, 2008).

Pelos resultados obtidos no teste de sanidade (Figura 4), pode-se verificar que a inoculação artificial com o fungo *Aspergillus flavus* foi eficiente, visto que a incidência mínima observada do fungo nas sementes inoculadas foi de 85%, independente da cultivar e do período de armazenamento.

Para as sementes não inoculadas foi observada baixa incidência desse fungo, sendo a incidência máxima observada na cultivar Silvania, aos dois meses de armazenamento, de 21% e a incidência mínima de 0% nas cultivares Conquista, BRS 245 e Celeste, respectivamente, aos seis meses de armazenamento.

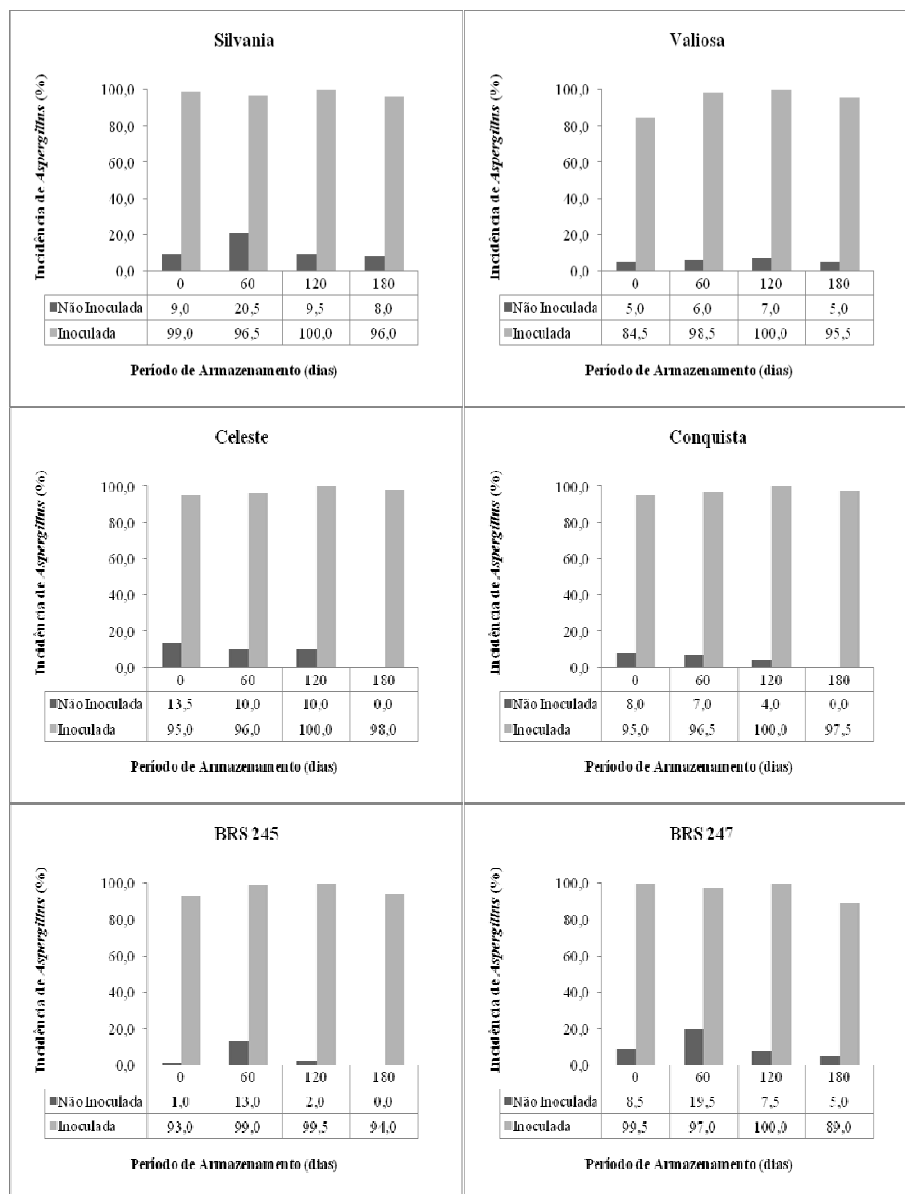


Figura 4 Incidência de *Aspergillus flavus* nas sementes de diferentes cultivares de soja, submetidas ao armazenamento por 0, 60, 120 e 180 dias.

Pelos dados obtidos na análise de variância da variável germinação, observa-se que houve interação significativa apenas para os fatores Cultivar x Armazenamento (Tabela 3A).

Observa-se que há uma tendência de redução da porcentagem de germinação com o aumento do período de armazenamento, para todas as cultivares estudadas (Figura 5), independente de terem sido inoculadas artificialmente ou não.

Pode-se observar, também, que esse decréscimo foi maior na cultivar Conquista, sendo esta considerada semente com médio teor de lignina, sendo mais evidente a partir dos 60 dias de armazenamento. Apesar da não influência do fator inoculação na interação cultivares e armazenamento, as sementes com menor teor de lignina, como a Celeste e a BRS 247 foram as que apresentaram menor redução.

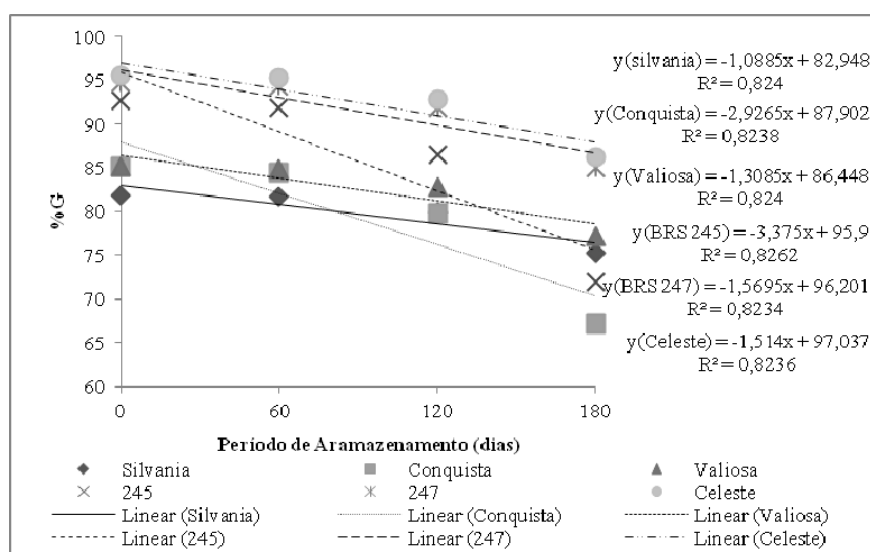


Figura 5 Porcentagem de germinação (%G) das sementes das diferentes cultivares de soja, inoculadas artificialmente ou não com *Aspergillus* e armazenadas por até 180 dias.

Pelos resultados do teste de média (Tabela 7), pode-se observar maior porcentagem de germinação nas cultivares Celeste e BRS 247, cujos teores de lignina foram considerados como os mais baixos, em todos os períodos de armazenamento.

De acordo com McDougall et al. (1996), a impermeabilidade do tegumento, conferida pela lignina, exerce efeito significativo sobre a capacidade e velocidade de absorção de água por meio desse, interferindo deste modo, na quantidade de lixiviados liberados para o meio externo durante a fase de embebição do processo de germinação das sementes.

Crocker (1948) já mencionava a necessidade de se conhecer melhor esse mecanismo, por considerá-lo o maior exemplo de eficiência contra a penetração de água, devendo, portanto, ser melhor aproveitado pelos melhoristas ajustando esta característica às suas necessidades. Como características gerais de cultivares de soja de tegumento menos permeável, pode-se citar o melhor potencial de conservação, os níveis inferiores de infecção por patógenos, o maior vigor e viabilidade, além da resistência à reabsorção de umidade após a maturação (PANOBIANCO, 1997).

Tabela 7 Porcentagem de germinação (%G) das sementes de diferentes cultivares de soja, armazenadas por até 180 dias.

Cultivar	%G			
	0 dias	60 dias	120 dias	180 dias
Silvania	90 b	76 c	76 c	77 b
Conquista	93 b	80 b	76 c	69 d
Valiosa	91 b	83 b	78 c	79 b
BRS 245	96 a	92 a	83 b	73 c
BRS 247	98 a	92 a	91 a	86 a
Celeste	99 a	95 a	90 a	87 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Para os resultados do teste de emergência, houve interação tripla significativa entre os fatores inoculação x cultivar x armazenamento (Tabela 3A).

A mesma tendência de redução da porcentagem de germinação ao longo do período de armazenamento foi observada para a porcentagem de emergência das sementes (Figura 6), sendo esta redução ainda mais acentuada nas sementes que foram inoculadas artificialmente (Figura 6a), alcançando uma porcentagem mínima de 36% para a cultivar Celeste e 37% para a cultivar Valiosa, aos 180 dias de armazenamento (Tabela 8). Nas sementes não inoculadas artificialmente a porcentagem mínima para essas mesmas cultivares, no mesmo período de armazenamento, foi de 66% e 58% (Tabela 8).

Tabela 8 Porcentagem de emergência (%E) das sementes de diferentes cultivares de soja inoculadas ou não e armazenadas por até 180 dias.

Período de armazenamento (dias)	0		60		120		180	
Cultivar	CI	SI	CI	SI	CI	SI	CI	SI
Silvania	89 a B	93 a A	73 b D	80 a C	66 b C	75 a B	71 a B	75 a B
Valiosa	90 a B	95 a A	70 a D	74 a D	54 b D	64 a C	37 b E	58 a D
Conquista	93 a A	96 a A	89 a B	92 a B	64 b C	77 a B	44 b D	67 a C
245	94 a A	95 a A	86 b C	91 a B	85 a A	86 a A	60 b C	76 a B
247	98 a A	98 a A	94 a A	96 a A	88 a A	89 a A	82 a A	84 a A
Celeste	98 a A	98 a A	83 b C	89 a B	74 b B	84 a A	36 b E	66 a C

*CI – com inoculação; SI – sem inoculação. Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha para cada período de armazenamento e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

No teste de tetrazólio, também houve interação tripla entre os fatores inoculação x cultivar x armazenamento (Tabela 3A). Para esta variável também foi observado comportamento semelhante aos obtidos no teste de germinação e emergência, havendo redução da viabilidade das sementes ao longo do período de armazenamento, tanto nas sementes que foram inoculadas (Figura 7a) quanto nas que não foram (Figura 7b).

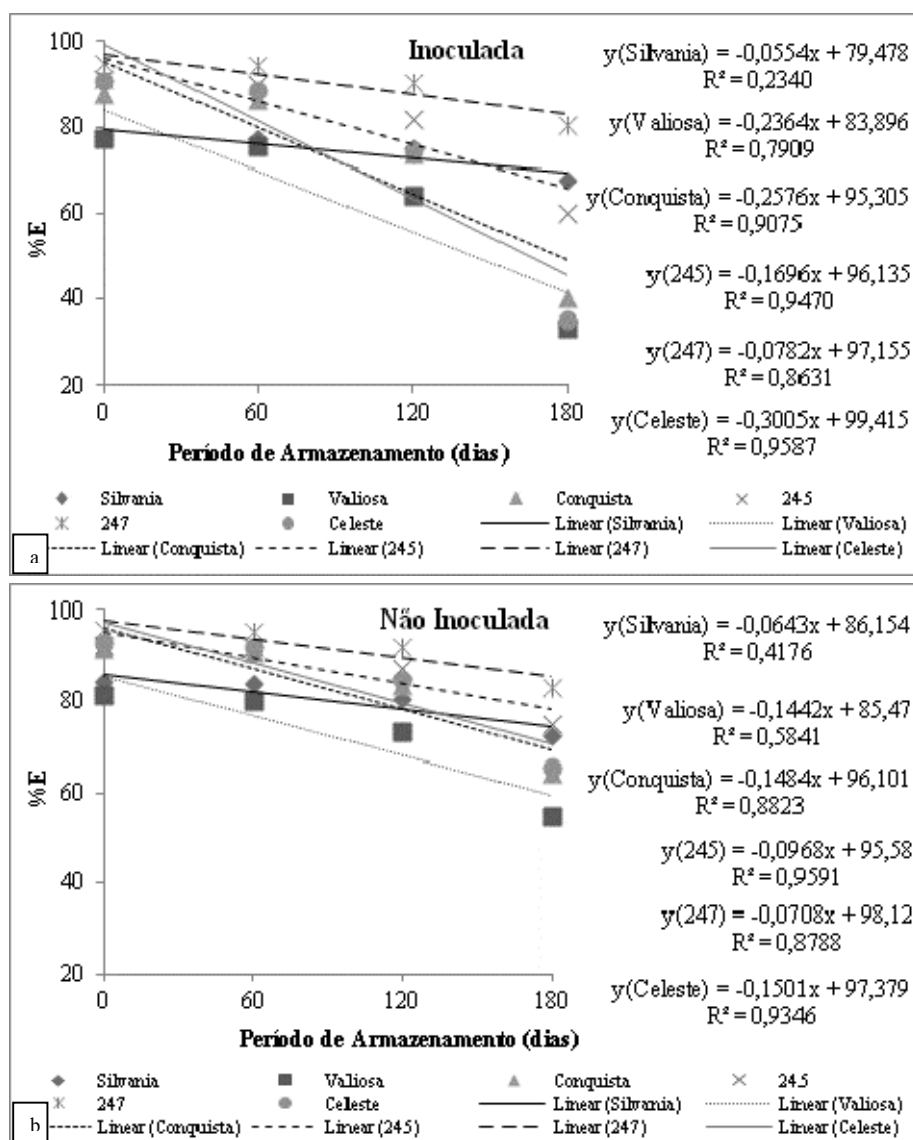


Figura 6 Porcentagem de emergência (%E) das sementes de diferentes cultivares de soja, inoculadas artificialmente com *Aspergillus flavus* (a) e não inoculadas (b), armazenadas por até 180 dias.

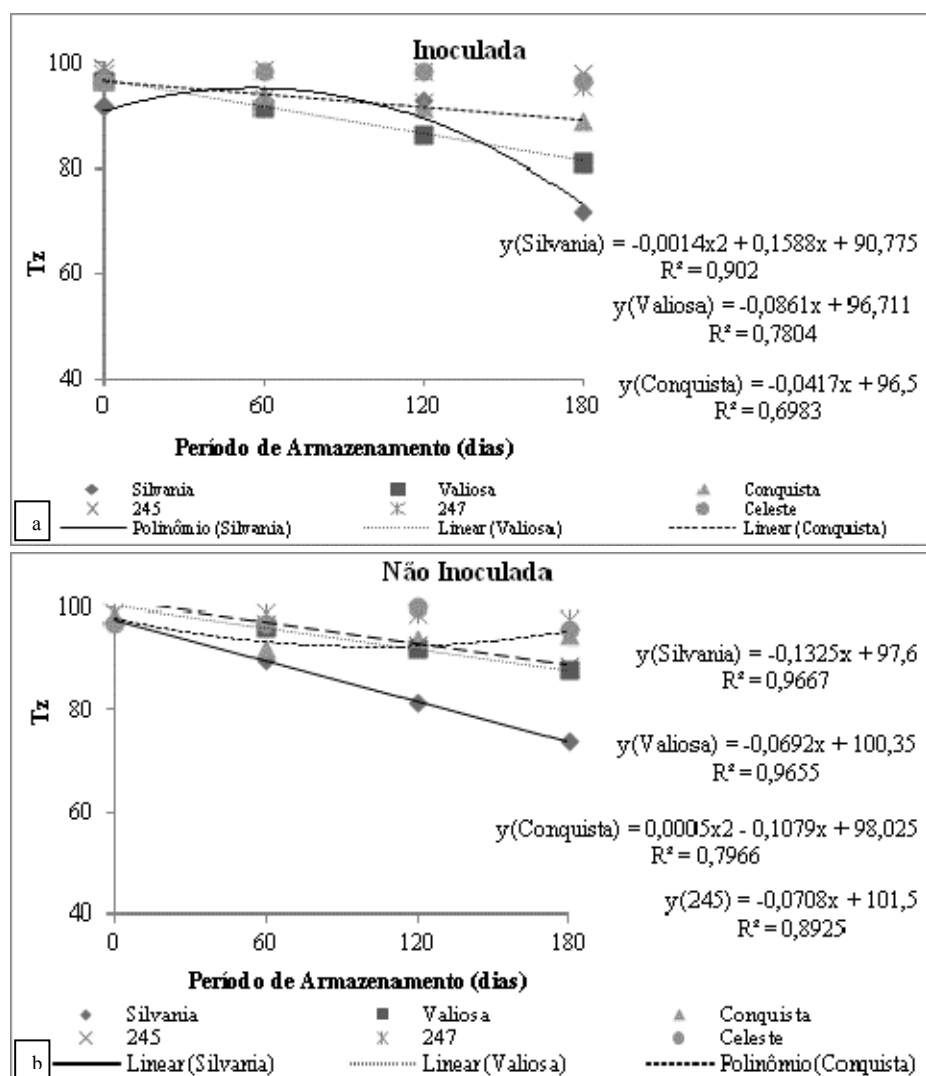


Figura 7 Viabilidade obtida, por meio do teste de tetrazólio, das sementes de diferentes cultivares de soja, inoculadas artificialmente com *Aspergillus flavus* (a) e não inoculadas (b), armazenadas por até 180 dias.

Pode-se observar, também, que essa redução ocorreu a partir dos 60 dias de armazenamento, sendo maior nas sementes consideradas de alto e médio teor

de lignina e que foram inoculadas artificialmente, sendo observado que houve deterioração tanto em função do armazenamento prolongado quanto pela presença do fungo (Tabela 9).

Tabela 9 Viabilidade média obtida, por meio do teste de tetrazólio, das sementes de diferentes cultivares de soja, submetidas ou não à inoculação artificial com *Aspergillus flavus* e armazenadas por até 180 dias.

Cultivar	0 dias		60 dias		120 dias		180 dias	
	Inoc.	N/Inoc.	Inoc.	N/Inoc.	Inoc.	N/Inoc.	Inoc.	N/Inoc.
Silvania	92 a A	97 a A	92 a B	91 a B	93 a B	84 b C	72 a C	72 a C
Valiosa	94 b A	100 a A	94 a B	97 a A	90 a B	93 a B	78 b B	87 a B
Conquista	98 a A	99 a A	91 a B	92 a B	93 a B	94 a B	89 b B	95 a A
245	99 a A	100 a A	99 a A	99 a A	99 a A	95 a B	98 a A	97 a A
247	99 a A	99 a A	92 b B	99 a A	94 a B	99 a A	95 a A	98 a A
Celeste	97 a A	97 a A	97 a A	97 a A	100 a A	100 a A	96 a A	96 a A

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha em cada período de armazenamento e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Para a variável condutividade elétrica, houve interação significativa apenas para os fatores inoculação x armazenamento (Tabela 3A).

Os dados obtidos no teste de condutividade elétrica sugerem uma tendência de aumento da condutividade com o aumento do período de armazenamento, tanto para as sementes inoculadas artificialmente quanto para as que não foram, independentemente da cultivar (Figura 8).

As sementes inoculadas com o fungo apresentaram maiores médias de condutividade elétrica em todo o período de armazenamento, sendo esta diferença significativa apenas aos 60 e aos 180 dias de armazenamento (Tabela 10). Com base nesses resultados, observa-se que a inoculação com o fungo *Aspergillus flavus* propiciou aumento na condutividade elétrica das sementes, demonstrando que estes são capazes de acelerar o processo de deterioração promovido pela desestruturação do sistema de membrana.

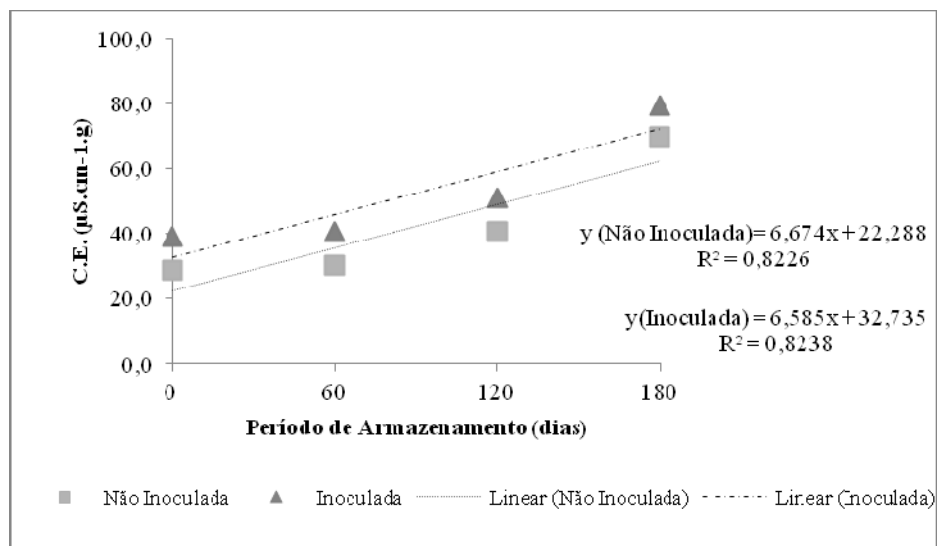


Figura 8 Condutividade elétrica (C.E.) das sementes das diferentes cultivares de soja, inoculadas artificialmente com *Aspergillus flavus* armazenadas por até 180 dias.

Observou-se, também, que mesmo após o armazenamento por até 180 dias em sementes inoculadas, os valores de condutividade elétrica encontrados ainda foram considerados satisfatórios para sementes de alto vigor, como sugerem Vieira e Krzyzanowski (1999), que consideram sementes de alto vigor com um máximo de até $70\text{-}80 \mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$, porém com forte tendência a apresentarem médio vigor.

Panobianco (1997), ao relacionar a variação na condutividade elétrica de sementes de soja e o teor de lignina no tegumento das mesmas, afirmou que o genótipo pode alterar a condutividade elétrica para sementes com o mesmo padrão de qualidade fisiológica.

Tabela 10 Médias de condutividade elétrica (CE) das sementes de diferentes cultivares de soja, submetidas ou não à inoculação artificial com *Aspergillus flavus* e armazenadas por até 180 dias.

Fungo	CE ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)			
	0 dias	60 dias	120 dias	180 dias
Inoculada	32,81 a	53,57 b	58,36 b	71,25 c
Não Inoculada	22,67 a	32,17 a	49,34 b	59,84 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Essa observação sugere que houve redução na qualidade fisiológica dessas sementes, pois quanto maior a condutividade elétrica, maior é o estado de deterioração das mesmas. Esses dados ainda confirmam o que foi observado nos testes de germinação, pois com o aumento do período de armazenamento houve redução nas porcentagens de germinação e aumento nos valores de condutividade elétrica, para todas as cultivares.

Microscopia eletrônica de varredura

Pela análise de variância (Tabela 4A), observou-se interação significativa apenas para as fontes de variação cultivar x armazenamento na variável camada em paliçada (CP). Para as demais variáveis, camada em ampulheta (CA) e o conjunto da camada em paliçada e a camada em ampulheta (CPA), houve significância apenas para a fonte de variação cultivar.

Os dados de espessura da camada paliçada estão apresentados na Figura 8, onde é possível observar uma tendência de redução dessa medida em função do aumento do período de armazenamento para as cultivares Silvania e BRS 245. Para a cultivar Celeste observa-se tendência de aumento dessa medida após esse mesmo período de armazenamento. Para as demais cultivares não houve significância dos dados (Figura 9).

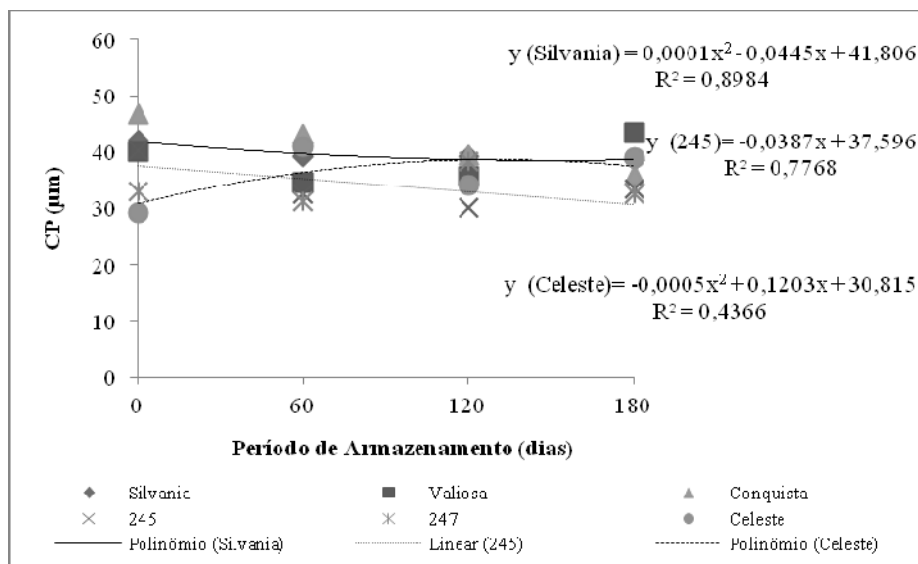


Figura 9 Espessura da camada paliçada do tegumento de sementes de soja inoculadas com *Aspergillus flavus*, armazenadas por até 180 dias.

Pelo teste de média (Tabela 11), observa-se que, quando não submetidas ao armazenamento, nas sementes das cultivares Celeste e BRS 247 foram obtidos os menores valores de espessura da camada de células paliçadas. Após 60 dias de armazenamento, observou-se aumento significativo dessa variável para a cultivar Celeste, sendo observado redução dessa camada para as demais cultivares, principalmente nas cultivares BRS 247 e BRS 245.

Os dados de espessura das camadas de células em paliçada, em ampolheta e do conjunto paliçada/ampolheta estão apresentados na Tabela 12, onde é possível verificar maiores espessuras dessas camadas na cultivar Silvania, seguida das cultivares Valiosa e Conquista, as quais foram consideradas de alto e médio teor de lignina, enquanto que as cultivares consideradas de baixo teor de lignina, BRS 245, BRS 247 e Celeste, apresentaram os menores valores para essas mesmas medidas.

Segundo Baldoni (2010), além do teor de lignina, a espessura do tegumento, caracterizada pelas espessuras das camadas de células em paliçada e células em ampulheta, também, podem estar associadas à qualidade fisiológica das sementes.

Tabela 11 Espessura da camada de células paliçádicas (CP), obtida em microscopia eletrônica de varredura das sementes de soja inoculadas ou não com *Aspergillus flavus*, armazenadas por até 180 dias,.

Cultivar	CP (mm)			
	0 dias	60 dias	120 dias	180 dias
Silvania	41,97 a	39,18 a	39,10 a	38,45 a
Valiosa	39,27 a	37,37 a	33,02 b	44,43 a
Conquista	47,22 a	40,69 a	42,77 a	34,46 b
245	40,99 a	30,73 b	31,86 b	32,86 b
247	32,99 b	31,32 b	38,40 a	32,67 b
Celeste	29,30 b	40,91 a	34,03 b	38,96 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Por meio das análises ultraestruturais, obtidas por microscopia de luz, Menezes et al. (2009) observaram que a lignina encontra-se depositada nessas duas camadas. Com o auxílio do microscópio eletrônico de varredura (MEV), é possível avaliar a deposição da lignina nas camadas do tegumento e determinar a relação com a qualidade fisiológica das sementes. Utilizando-se principalmente de elétrons secundários (Alves, 2006), a análise estrutural do tegumento das sementes por meio do MEV destina-se, basicamente, ao exame de superfícies internas e determina se elas estão fraturadas e expostas.

O conjunto das camadas das células em paliçada e das células em ampulheta variou de 59,30 a 89,30 μm (Tabela 12). De acordo com Caviness & Simpson Junior (1974), a espessura das quatro camadas de células da testa (cutícula, células em paliçada, hipoderme, parênquima lacunoso) de uma semente de soja varia entre 70 e 110 μm . Esses autores observaram também

diferenças entre cultivares e que, dentro de cada cultivar, essa característica física é constante e controlada geneticamente. Essas estruturas podem ser observadas na Figura 10.

Tabela 12 Teor de lignina e espessura das camadas de células em paliçada (CP), células em ampulheta (CA) e do conjunto de células em paliçada e em ampulhetas (CPA), obtidos em microscopia eletrônica de varredura, das sementes de soja inoculadas ou não com *Aspergillus flavus*, armazenadas por até 180 dias.

Cultivar	TL (%)	CP(μm)	CA (μm)	CPA (μm)
Silvania	0,442 a	39,68 a	44,62 a	84,30 a
Valiosa	0,290 b	38,52 a	40,50 a	79,02 a
Conquista	0,310 b	41,28 a	33,57 b	74,86 a
BRS 245	0,200 c	34,11 b	25,18 b	59,30 b
BRS 247	0,190 c	33,84 b	29,85 b	63,70 b
Celeste	0,172 c	35,80 b	29,16 b	64,96 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Silva et al. (2008), por meio de eletromicrografias de varredura de cortes transversais da testa das sementes, das cultivares de soja M-Soy 8400 e M-Soy 8411, observaram três camadas de células e seu comportamento quando expostas a cinco períodos de envelhecimento acelerado. Foi constatada redução na espessura das camadas da testa das cultivares avaliadas com o envelhecimento. Essa redução sugere um colapso das células que compõem essas camadas, que pode estar relacionado com a redução do potencial germinativo.

Por meio das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura, também foi possível observar o fungo na superfície do tegumento (Figuras 10 a e 11 a) e a penetração das hifas na camada das células em ampulheta do tegumento das sementes nas cultivares Silvania (Figura 10 b) e Valiosa (Figura 11 b).

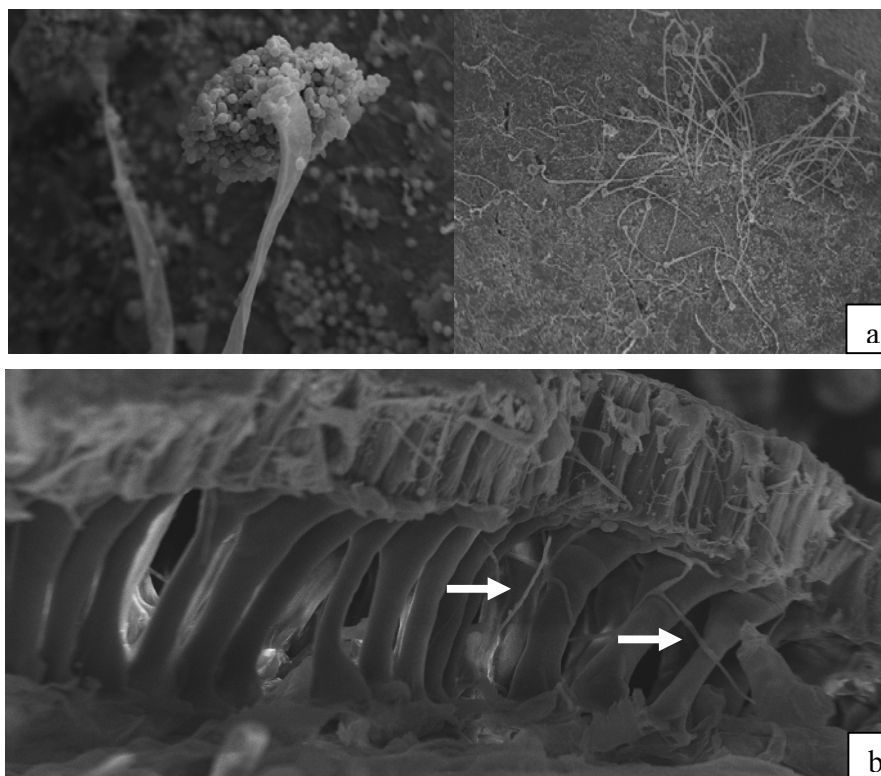


Figura 10 Estruturas do fungo *Aspergillus flavus* na superfície do tegumento (a) e penetrando as sementes de soja na cultivar Silvania (b).

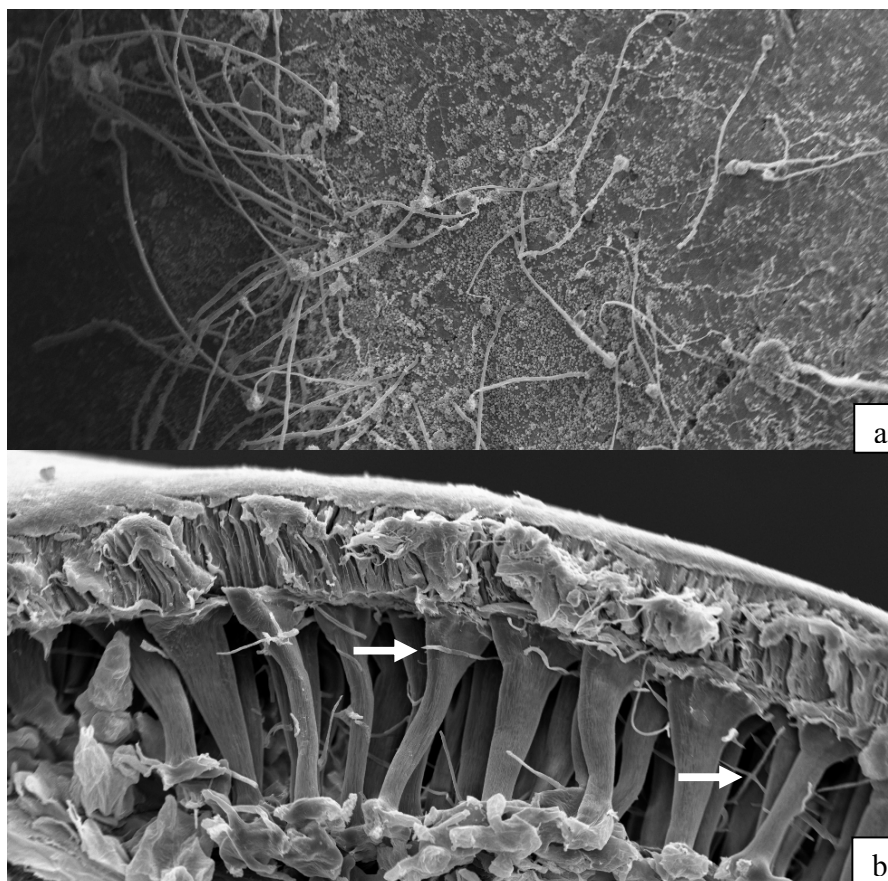


Figura 11 Estruturas do fungo *Aspergillus flavus* na superfície do tegumento (a) e penetrando as sementes de soja na cultivar Valiosa (b).

4.2.2 Sementes inoculadas com *Penicillium sp.*

As médias dos resultados obtidos na determinação do grau de umidade das sementes de soja com diferentes teores de lignina, submetidas ou não à inoculação artificial com *Penicillium sp.*, armazenadas por até 180 dias, também não apresentaram grandes variações e o maior teor de água foi de 10,90%. (Tabela 13).

Tabela 13 Grau de umidade (%U) das sementes de diferentes cultivares de soja, submetidas à inoculação artificial com *Penicillium sp* e armazenadas por 180 dias.

Período de Armazenamento	0 dias		60 dias		120 dias		180 dias	
Cultivar	CI	SI	CI	SI	CI	SI	CI	SI
Silvania	10,17	10,11	10,35	10,29	9,29	9,27	10,09	10,01
Valiosa	10,51	10,48	10,58	10,56	10,52	10,51	9,64	9,57
Celeste	10,00	9,94	10,27	10,11	10,49	10,46	9,55	9,43
Conquista	10,38	10,25	9,57	9,53	9,92	9,88	9,45	9,44
BRS 245	9,58	9,46	10,07	10,03	10,70	10,62	10,40	10,36
BRS 247	10,11	10,09	10,73	10,68	10,90	10,8	9,91	9,8

Observa-se que não houve alterações nas médias do grau de umidade em função do aumento do período de armazenamento, independentemente da cultivar e de ter sido ou não submetida à inoculação artificial com o fungo *Penicillium sp*, assim como observado quando as sementes foram inoculadas com o fungo *Aspergillus flavus*.

O teor de lignina do tegumento da semente diferiu significativamente entre as cultivares, assim como observado para aquelas que foram inoculadas com *Aspergillus* e também não alterou significativamente após o período de armazenamento de 180 dias (Tabela 5A), sugerindo que ambos os fungos não são capazes de degradar a camada de lignina depositada no tegumento.

Para o teor de lignina (Tabela 14), pode-se observar que as cultivares Silvania, Valiosa e Conquista apresentaram teores mais elevados, sendo consideradas como sementes com alto teor de lignina, enquanto que as cultivares Celeste, BRS 247 e BRS 245 tiveram menor teor sendo essas consideradas de baixo teor de lignina, mesmo após a inoculação com o fungo *Penicillium sp*, assim como observado quando as sementes foram inoculadas com *Aspergillus flavus*.

Tabela 14 Teor médio de lignina (g%) das sementes de diferentes cultivares de soja, submetidas ou não à inoculação artificial com *Penicillium sp.* e armazenadas por até 180 dias.

Teor de lignina (g%)				
Cultivar	0 dias	60 dias	120 dias	180 dias
Silvania	0,446 aA	0,442 aA	0,442 aA	0,440 aA
Valiosa	0,307 bA	0,306 bA	0,307 bA	0,304 bA
Conquista	0,292 bA	0,290 bA	0,287 bA	0,288 bA
BRS 247	0,199 cA	0,196 cA	0,195 cA	0,193 cA
BRS 245	0,192 cA	0,186 cA	0,186 cA	0,185 cA
Celeste	0,176 cA	0,172 cA	0,172 cA	0,171 cA

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Segundo Tavares et al. (1987) a lignificação do tegumento confere resistência mecânica ao tecido e protege a parede celular de infecções por microrganismos.

Alvarez et al. (1997) e Panobianco et al. (1999) observaram relação direta entre a resistência das sementes a danos mecânicos e os teores de lignina. Também foi observada grande variabilidade genética para a resistência a dano mecânico (CARBONELL; KRZYZANOWSKI, 1995) e para o teor de lignina (CARBONELL; KRZYZANOWSKI, 1995; ALVAREZ et al., 1997).

Pelos resultados obtidos no teste de sanidade (Figura 12) pode-se verificar que a inoculação artificial foi eficiente, visto que a incidência mínima observada do fungo nas sementes, que foram inoculadas, foi de 62,5% para a cultivar Celeste antes do armazenamento.

As sementes que não foram inoculadas apresentaram baixa incidência deste fungo, sendo a incidência máxima observada na cultivar Valiosa, aos 180 dias armazenamento, com uma média de 3,5%.

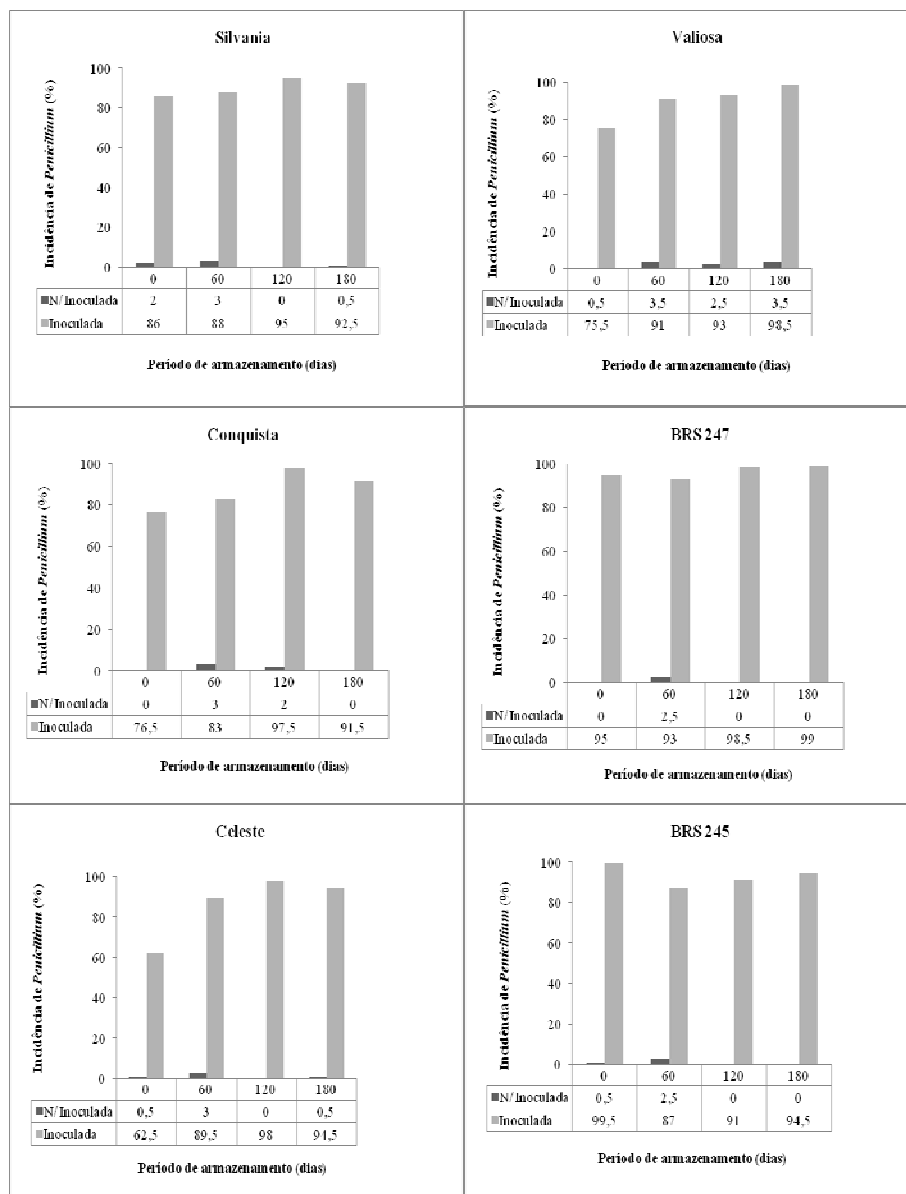


Figura 12 Incidência de *Penicillium* sp. nas sementes de diferentes cultivares de soja, submetidas ao armazenamento por 0, 60, 120 e 180 dias.

Pelos dados obtidos na análise de variância para a variável germinação, observa-se que houve interação significativa apenas para os fatores cultivar x armazenamento e também para os fatores isolados (Tabela 6A).

Observa-se que há uma tendência de redução da porcentagem de germinação com o aumento do período de armazenamento, para todas as cultivares estudadas, independente delas terem sido inoculadas artificialmente ou não (Figura 13).

Assim como observado para as sementes inoculadas com *Aspergillus flavus*, pode-se observar que esse decréscimo também foi maior na cultivar Conquista, sendo ela considerada semente com médio teor de lignina e mais evidente a partir dos 60 dias de armazenamento. As sementes com menor teor de lignina, como a BRS 245, a Celeste e a BRS 247 foram as que apresentaram maiores valores de germinação mesmo após o armazenamento por 180 dias.

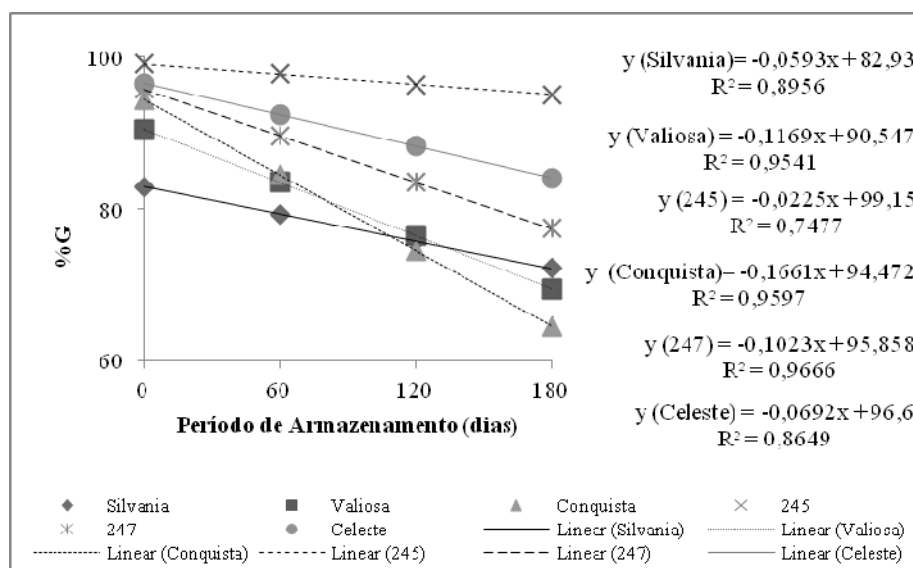


Figura 13 Porcentagem de germinação (%G) das sementes das diferentes cultivares de soja, armazenadas por até 180 dias.

Pelo teste de média (Tabela 15), pode-se observar maior porcentagem de germinação nas cultivares BRS 245, BRS 247, Celeste e Conquista, quando as sementes não foram armazenadas. No entanto, apenas a cultivar BRS 245 manteve a germinação constante após o período de armazenamento. Observa-se também que as cultivares, cujo teor de lignina foi considerado como baixo, foram as que apresentaram menor redução ao longo desse período de armazenamento.

Tabela 15 Médias da porcentagem de germinação (%G) das sementes de diferentes cultivares de soja inoculadas ou não com *Penicillium* e armazenadas por até 180 dias.

Cultivar	%G			
	0 dias	60 dias	120 dias	180 dias
Silvania	84 cA	78 eB	75 cB	74 dB
Valiosa	92 bA	82 dB	75 cC	71 eC
Conquista	95 aA	85 cB	71 dC	67 fD
BRS 245	97 aA	99 aA	96 aA	95 aA
BRS 247	97 aA	88 cB	83 bB	79 cB
Celeste	98 aA	93 bA	85 bB	86 bB

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Para o teste de emergência, houve interação tripla significativa entre as variáveis inoculação x cultivar x armazenamento (Tabela 6A).

Para essa variável pode-se observar o mesmo comportamento obtido no teste de germinação, ou seja, redução ao longo do período de armazenamento para todas as cultivares, tendo as sementes sido inoculadas com o fungo (Figura 14a) ou não (Figura 14b).

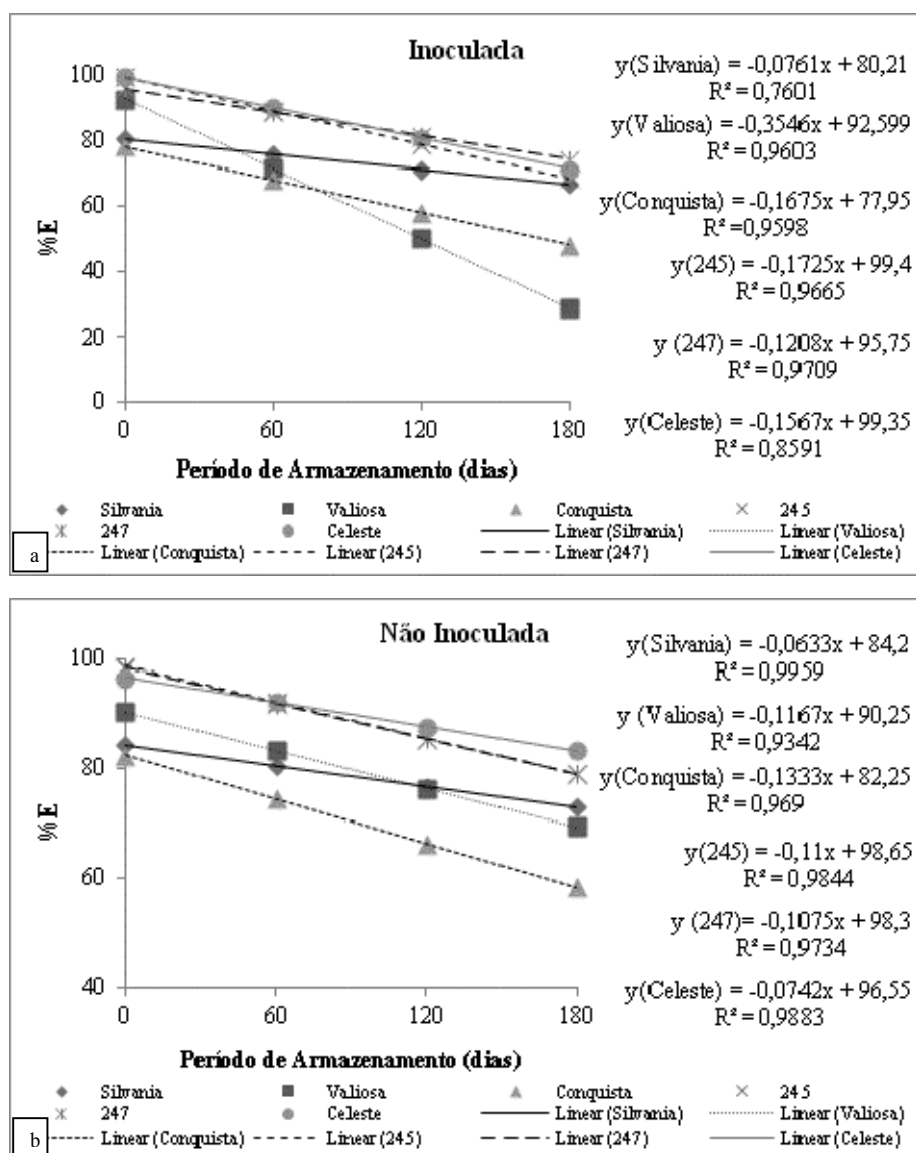


Figura 14 Porcentagem de emergência (%E) das sementes de diferentes cultivares de soja, inoculadas artificialmente com *Penicillium sp.* (a) e não inoculadas (b), armazenadas por até 180 dias.

A redução foi ainda mais acentuada nas sementes que foram inoculadas artificialmente, alcançando uma porcentagem mínima de 24% , aos seis meses de armazenamento para a cultivar Valiosa (Figura 14a). Nas sementes não inoculadas artificialmente a porcentagem mínima de emergência para essa mesma cultivar, no mesmo período de armazenamento, foi de 72%.

Observou-se mais uma vez que as sementes de baixo teor de lignina foram as que apresentaram menor redução da porcentagem de emergência, durante o armazenamento, tanto nas sementes que foram inoculadas artificialmente quanto nas que não foram.

A partir dos 60 dias de armazenamento, pode-se observar que houve superioridade no desempenho das sementes que não foram inoculadas, principalmente nas sementes com alto e médio teor de lignina, sendo observada essa mesma diferença nas sementes com baixo teor de lignina apenas a partir dos 180 dias de armazenamento (Tabela 16).

Tabela 16 Médias da porcentagem de emergência (%E) das sementes de diferentes cultivares de soja inoculadas ou não com *Penicillium* e armazenadas por até 180 dias.

Cultivar	%E							
	0 dias		60 dias		120 dias		180 dias	
	Inoc.	N/Inoc.	Inoc.	N/Inoc.	Inoc.	N/Inoc.	Inoc.	N/Inoc.
Silvania	83 c A	85 c A	71 b B	80 b A	74 b A	77 b A	67 b B	73 b A
Valiosa	91 b A	92 b A	71 b B	83 b A	58 c B	73 b A	24 d B	72 b A
Conquista	79 c A	84 c A	69 b A	74 c A	54 c B	64 c A	50 c B	60 c A
245	98 a A	99 a A	90 a A	92 a A	82 a A	87 a A	66 b B	78 a A
247	95 a A	97 a A	90 a A	94 a A	83 a A	86 a A	73 a B	78 a A
Celeste	96 a A	96 a A	92 a A	93 a A	87 a A	88 a A	67 b B	83 a A

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha para cada período de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

No teste de tetrazólio, também houve interação tripla entre os fatores inoculação x cultivar x armazenamento (Tabela 6A).

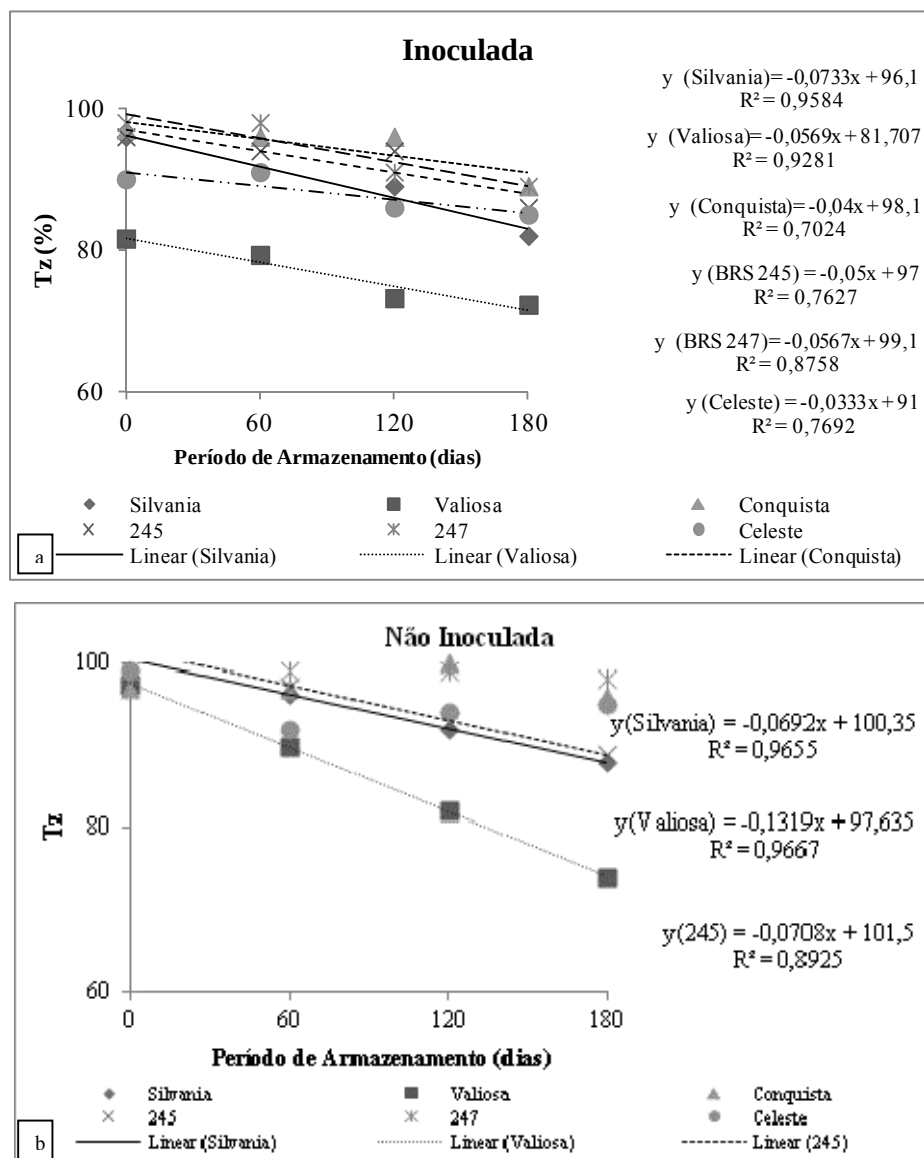


Figura 15 Viabilidade das sementes, obtida por meio do teste de tetrazólio, de diferentes cultivares de soja, inoculadas artificialmente com *Penicillium sp.* (a) e não inoculadas (b), armazenadas por até 180 dias.

Para esta variável também foi observado comportamento semelhante aos obtidos no teste de germinação e emergência, havendo redução da viabilidade das sementes ao longo do período de armazenamento (Tabela 17), tanto nas sementes que foram inoculadas (Figuras 15a) quanto nas que não foram (Figuras 15b).

Pode-se observar, também, que essa redução iniciou-se entre 0 e 60 dias de armazenamento, para as sementes que não foram inoculadas artificialmente (Figura 15b), sendo observado que houve deterioração tanto em função do armazenamento prolongado quanto pela presença do fungo (Figura 15).

Para as sementes inoculadas a redução da viabilidade iniciou-se a partir dos 60 dias de armazenamento (Figura 15a).

Tabela 17 Médias de viabilidade, obtidas por meio do teste de tetrazólio, das sementes de diferentes cultivares de soja, submetidas ou não à inoculação artificial com *Penicillium sp.*, armazenadas por até 180 dias.

Cultivar	Tz (%G)							
	0 dias		60 dias		120 dias		180 dias	
	CI	SI	CI	SI	CI	SI	CI	SI
Silvania	96 a A	100 a A	91 b A	97 a A	89 a A	93 a A	82 a A	87 b A
Valiosa	82 b B	97 a A	79 c B	91 a A	73 b A	84 b A	72 b A	72 c B
Conquista	97 b A	97 a A	96 a A	97 a A	96 a A	100 a A	89 a B	96 a A
245	96 b B	100 a A	94 a A	99 a A	94 a A	95 a A	86 a A	87 b A
247	98 a A	99 a A	98 a A	99 a A	91 a B	99 a A	89 a B	98 a A
Celeste	90 b B	99 a A	91 b A	92 a A	86 b B	94 a A	85 a B	95 a A

*CI – com inoculação; SI – sem inoculação. Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha para cada período de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Para a variável condutividade elétrica, houve interação tripla significativa para os fatores inoculação x cultivar x armazenamento (Tabela 6A).

Os dados obtidos no teste de condutividade elétrica sugerem uma tendência de aumento da condutividade durante todo o período de armazenamento (Figura 16).

Com base nestes resultados observa-se que a inoculação com o fungo *Penicillium sp.*, assim como para o fungo *Aspergillus flavus*, propiciou aumento na condutividade elétrica das sementes demonstrando que esses são capazes de acelerar o processo de deterioração promovido pela desestruturação do sistema de membrana.

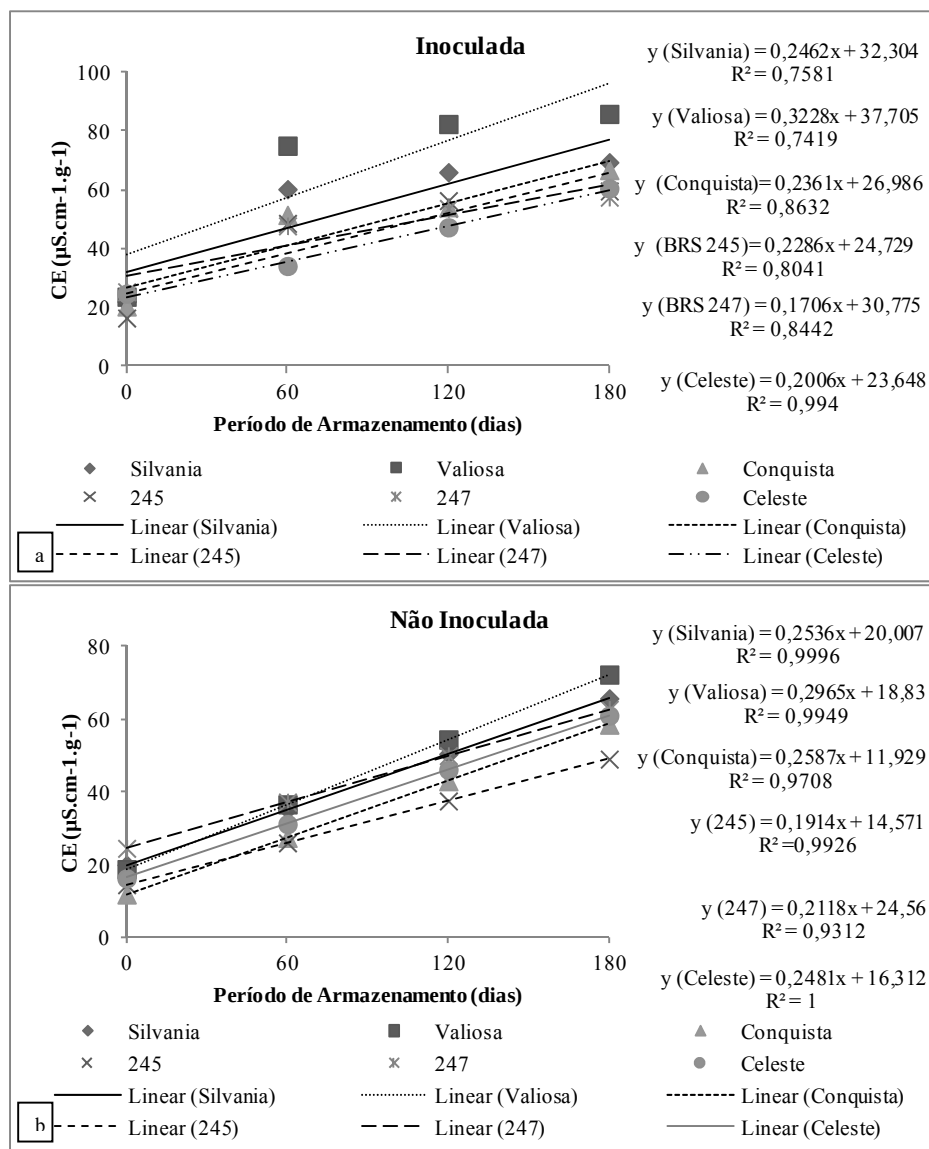


Figura 16 Condutividade elétrica (C.E.) das sementes das diferentes cultivares de soja, inoculadas artificialmente com *Penicillium sp.* (a) e não inoculadas (b), armazenadas por até 180 dias.

Pode-se verificar também que as cultivares Silvanía, Valiosa e Conquista, consideradas de alto e médio teor de lignina, apresentaram maiores valores para essa variável a partir dos 180 dias de armazenamento, quando não submetidas à inoculação artificial.

Tabela 18 Condutividade elétrica (CE) das sementes de diferentes cultivares de soja, submetidas ou não à inoculação artificial com *Penicillium* sp. e armazenadas por até 180 dias.

Cultivar	CE ($\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$)							
	0 dias		60 dias		120 dias		180 dias	
	CI	SI	CI	SI	CI	SI	CI	SI
Silvanía	22,1 a A	19,7 a A	60,3 b B	35,1 a A	76,0 c B	50,8 b A	69,4 a A	65,3 b A
Valiosa	23,8 a A	20,3 a A	75,0 b B	34,3 a A	82,4 c B	54,6 b A	85,8 b A	72,8 c A
Conquista	20,5 a A	13,9 a A	66,5 b B	26,7 a A	62,2 b B	38,4 a A	61,8 a A	61,8 b A
245	16,8 a A	14,25 a A	48,7 a B	25,6 a A	56,4 b B	39,4 a A	59,4 a B	47,9 a A
247	25,4 a A	20,4 a A	47,8 a B	42,2 a A	53,7 a A	52,6 b A	57,6 a A	59,3 b A
Celeste	24,8 a B	13,1 a A	34,1 a A	34,8 a A	47,3 a A	48,7 b A	60,5 a A	58,0 b A

* CI – com inoculação; SI – sem inoculação. Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha para cada período de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

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.

Em condições de laboratório, Silva (2003) observou que ocorreu maior liberação de eletrólitos, à medida que o período de armazenamento aumentou, provavelmente, em virtude do grau de deterioração.

Considera-se que a deterioração da semente esteja diretamente relacionada à perda da integridade das membranas (BEWLEY; BLACK, 1994), que conduz ao aumento da lixiviação de solutos (MATTHEWS; POWELL, 1981).

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.

Microscopia eletrônica de varredura

Pela análise de variância (Tabela 7A), observa-se interação significativa para as fontes de variação cultivar x armazenamento para todas as variáveis avaliadas, camada em paliçada (CP), camada em ampulheta (CA) e conjunto camada em paliçada e camada em ampulheta (CPA).

Os dados de espessura da camada em paliçada estão apresentados na Figura 16, onde é possível observar uma tendência de redução dessa medida até os 60 dias, seguida de aumento até os 180 dias, para a cultivar BRS 245. As demais cultivares apresentaram comportamento semelhante, com exceção da cultivar Celeste, que apresentou comportamento inverso, no entanto não apresentaram significância dos dados.

Pelo teste de média (Tabela 19), observa-se que, quando não submetidas ao armazenamento, menores valores de espessura da camada de células em paliçada foram obtidos para as sementes das cultivares Silvania e BRS 247. Após 60 dias de armazenamento, menores valores foram observados também para a cultivar Valiosa. Aos 120 dias de armazenamento, as cultivares de baixo teor de lignina foram as que apresentaram menores valores da camada em paliçada.

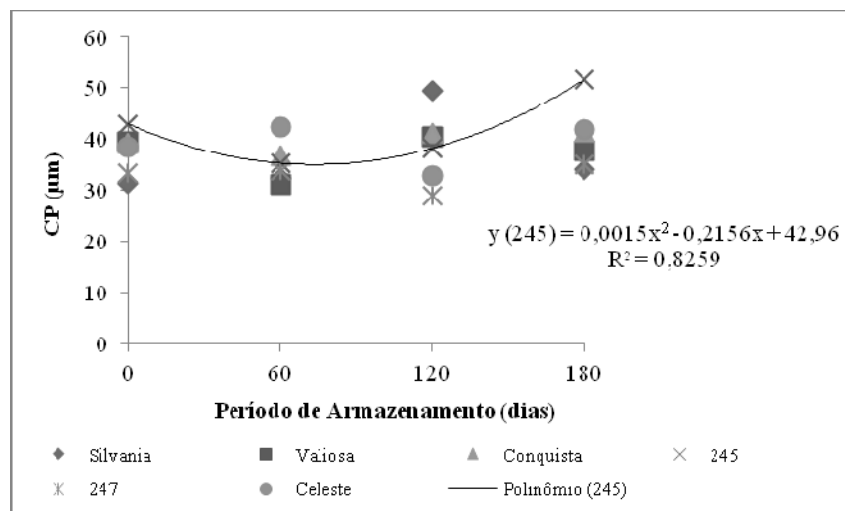


Figura 17 Espessura da camada em paliçada do tegumento de sementes de soja inoculadas ou não com *Penicillium sp.*, armazenadas por até 180 dias.

Os dados de espessura da camada de células em ampulheta estão apresentados na Figura 18, onde se observa uma tendência de aumento dessa medida em função do aumento do período de armazenamento para as cultivares Silvania e BRS 245. As demais cultivares apresentaram comportamento semelhante, tendo ocorrido uma redução a partir dos 120 dias, no entanto não houve significância desses dados.

Tabela 19 Espessura da camada de células em paliçada (CP), obtida em microscopia eletrônica de varredura das sementes de soja inoculadas ou não com *Penicillium sp.*, armazenadas por até 180 dias.

Cultivar	CP (μm)			
	0 dias	60 dias	120 dias	180 dias
Silvania	31,27 b	31,09 b	49,51 a	34,15 b
Valiosa	39,54 a	32,29 b	40,50 b	37,62 b
Conquista	39,10 a	36,69 a	41,16 b	41,38 b
245	41,69 a	39,11 a	34,38 c	52,90 a
247	33,32 b	33,85 b	29,03 c	35,06 b
Celeste	38,37 a	42,43 a	32,81 c	41,92 b

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

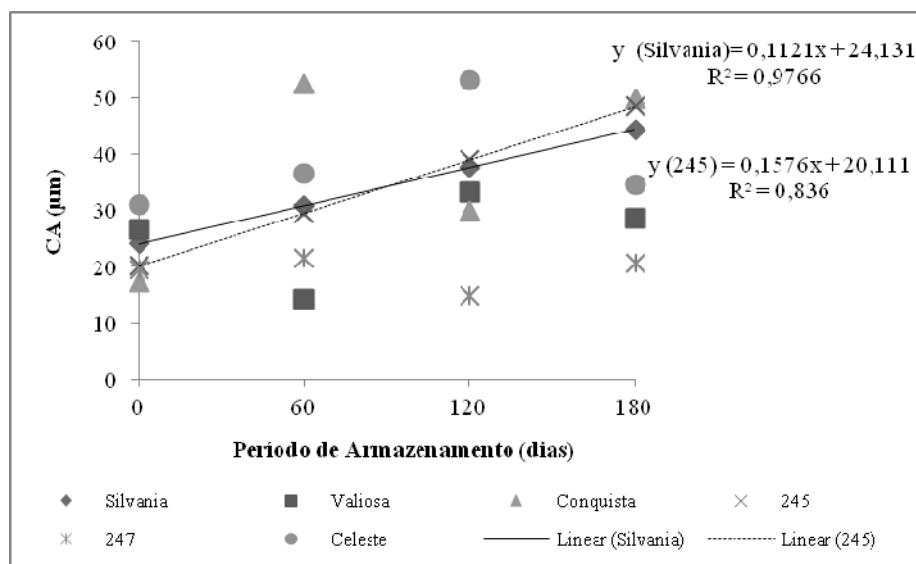


Figura 18 Espessura da camada de células em ampulheta do tegumento de sementes de soja inoculadas ou não com *Penicillium sp.*, armazenadas por até 180 dias.

Pelo teste de média (Tabela 20), observa-se que, quando não submetidas ao armazenamento, não houve diferença significativa entre as cultivares para a espessura da camada de células em ampulheta. A partir dos 60 dias de armazenamento, observa-se aumento dessa camada para todas as cultivares,

exceto para a cultivar Valiosa, que obteve o menor valor (14,27 μm). Esse aumento foi maior para a cultivar Conquista. Já aos 120 dias, o maior valor foi observado para a cultivar Celeste (53,07 μm) e o menor, para a cultivar BRS 247 (14,94 μm). Aos 180 dias, todas as cultivares apresentaram valores superiores aos observados quando as sementes não foram armazenadas.

Tabela 20 Espessura da camada de células em ampulheta (CA), obtida em microscopia eletrônica de varredura das sementes de soja inoculadas ou não com *Penicillium sp.*, armazenadas por até 180 dias.

Cultivar	CA (μm)			
	0 dias	60 dias	120 dias	180 dias
Silvania	25,17 a	28,92 c	38,34 b	44,46 a
Valiosa	26,53 a	14,27 c	33,29 b	28,60 b
Conquista	17,37 a	52,53 a	29,98 b	49,78 a
245	23,86 a	27,18 c	32,55 b	53,59 a
247	19,57 a	21,45 c	14,94 c	20,69 b
Celeste	30,95 a	36,47 b	53,07 a	34,52 b

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Mesmo comportamento dos dados de espessura da camada de células em ampulheta foi observado para os dados do conjunto da camada de células paliádicas e células em ampulheta (Figura 19), onde se observa uma tendência de aumento dessa medida em função do aumento do período de armazenamento para as cultivares Silvania e BRS 245. As demais cultivares apresentaram comportamento semelhante, tendo ocorrido redução a partir dos 120 dias, no entanto não houve significância desses dados.

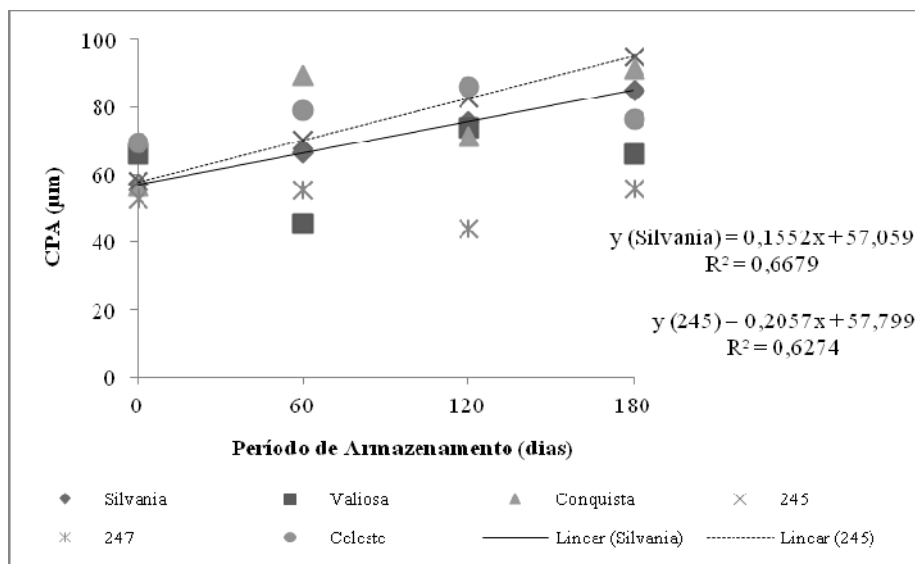


Figura 19 Espessura do conjunto da camada de células paliçadas e células em ampulheta (CPA) do tegumento de sementes de soja inoculadas ou não com *Penicillium sp.*, armazenadas por até 180 dias.

Observa-se que, quando não submetidas ao armazenamento, não houve diferença significativa entre as cultivares para a espessura do conjunto da camada de células em paliçada e células em ampulheta (Tabela 21). A partir dos 60 dias de armazenamento observa-se aumento dessa camada para todas as cultivares, exceto para a cultivar Valiosa, que obteve o menor valor (45,36 µm). O maior aumento foi observado para a cultivar Conquista (89,23 µm). Já aos 120 dias, o maior valor foi observado para as cultivares Celeste (87,55 µm) e Silvanía (85,89 µm). Aos 180 dias todas as cultivares apresentaram valores superiores aos observados quando as sementes não foram armazenadas.

Tabela 21 Espessura do conjunto camada de células paliçádicas e células em ampulheta (CPA) , obtida em microscopia eletrônica de varredura, das sementes de soja inoculadas ou não com *Penicillium sp.*, armazenadas por até 180 dias.

Cultivar	CPA (μm)			
	0 dias	60 dias	120 dias	180 dias
Silvania	56,44 a	61,22 b	85,89 a	78,61 b
Valiosa	66,08 a	45,36 b	73,79 b	66,22 c
Conquista	56,48 a	89,23 a	71,14 b	91,17 a
245	65,55 a	66,30 b	66,94 b	106,49 a
247	52,89 a	55,30 b	43,97 c	55,76 c
Celeste	69,32 a	78,90 a	87,55 a	76,44 b

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Segundo Silva (2003), não ocorre interação entre as condições e os períodos de armazenamento, com relação à espessura das camadas da testa das sementes da cultivar Monsoy 8411. Entretanto, a testa das sementes, armazenadas em câmara fria, apresentou a espessura das camadas paliçádica, hipodérmica e das três camadas combinadas, significativamente superior à da testa das sementes armazenadas em laboratório. Supõe-se que as condições da câmara fria tenham retardado o colapso das células que compõem as camadas.

Por meio das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura, também foi possível observar o fungo na superfície do tegumento (Figuras 20 a e 21 a) e a penetração das hifas e a presença de esporos na camada das células em ampulheta do tegumento das sementes nas cultivares Silvania (Figura 20 b), Conquista (Figura 21 b).

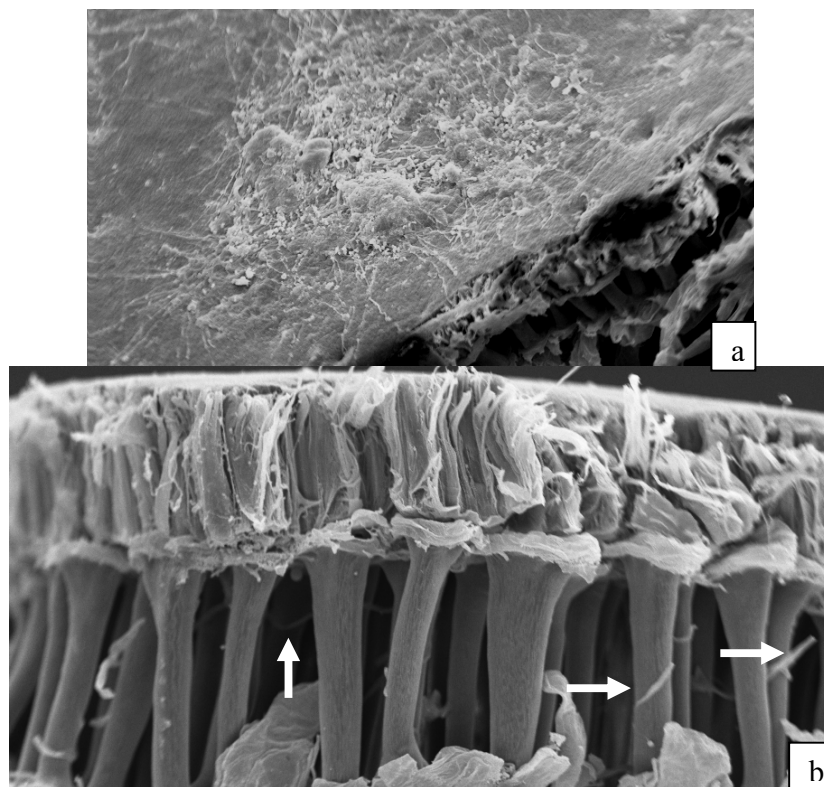


Figura 20 Estruturas do fungo *Penicillium sp.* na superfície do tegumento (a) e penetrando as sementes de soja na cultivar Sylvania (b).

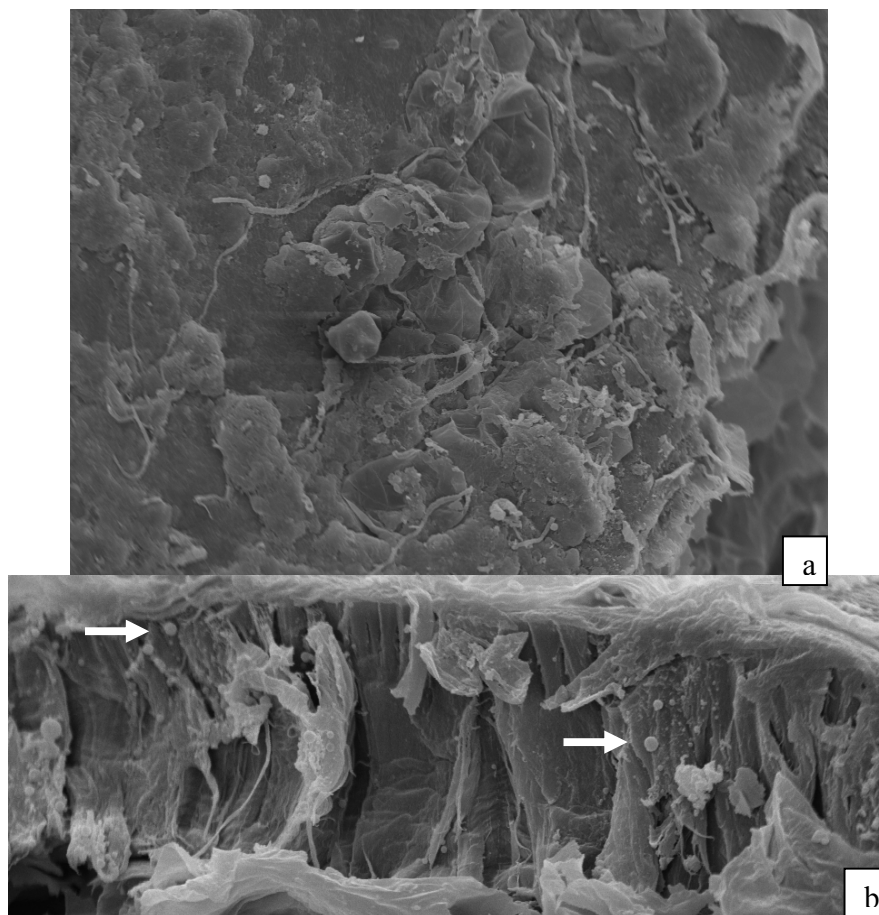


Figura 21 Estruturas do fungo *Penicillium sp.* na superfície do tegumento (a) e penetrando as sementes de soja na cultivar Conquista (b).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o desenvolvimento deste trabalho pode-se observar alta estabilidade dos valores de germinação e vigor para a Cultivar Silvana, considerada de alto teor de lignina, mesmo após 180 dias de armazenamento.

Segundo Campbell e Sederoff (2006), a estabilidade dos teores de lignina, presentes nos tegumentos das diferentes cultivares de soja, durante o armazenamento, pode ser explicado pela insolubilidade e a complexidade do polímero da lignina. Estas características tornam a lignina resistente à degradação pela maioria dos microrganismos.

A resistência à compressão e hidrofobicidade das paredes celulares do xilema são transmitidas pelo polímero de lignina, que é depositado durante a diferenciação terminal de traqueídeos e outros tipos de células. A resistência à compressão do xilema para tensões impostas pelo transporte de água e pela massa das plantas é importante para o crescimento e desenvolvimento. Além disso, a insolubilidade e complexidade do polímero de lignina a torna resistente à degradação pela maioria dos microrganismos. Portanto, a lignina tem uma função importante de defesa da planta.

No entanto, variação no teor de lignina, composição e localização podem afetar estes processos essenciais. Além disso, restrições sobre a quantidade, composição e localização da lignina para a função normal do xilema e do sistema de defesa da planta não são conhecidos.

A lignificação das células do esclerênquima inicia-se pela lamela mediana e parede primária; depois atinge a parede secundária. A lignina é

inerte e fornece um revestimento estável, evitando ataques químico, físico e biológico. Enquanto a água e a maioria das substâncias nela dissolvidas passam facilmente pela parede primária, na parede secundária a passagem é extremamente lenta (APPEZZATO-DA-GLORIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

Segundo Vieira et al. (1982), 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. Isso despertou o interesse pela utilização de sementes que possuam testa com certo grau de dureza (GIGLIOLI; FRANÇA NETO, 1982; PESKE; PEREIRA, 1983; HARTWIG; 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; POTTS, 1987); reduzida incidência de patógenos transmitidos por sementes (MIRANDA, 1977; HILL et al., 1985; 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; FRANÇA NETO, 1982); maior resistência aos danos mecânicos, durante a colheita (FRANÇA NETO; 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; KUENEMAN, 1984).

6 CONCLUSÕES

Sementes com baixo teor de lignina têm maior potencial germinativo, mesmo após o armazenamento por até 180 dias em condições controladas de temperatura e umidade.

A espessura do tegumento e o teor de lignina de sementes de soja variam em função da cultivar.

O teor de lignina nos tegumentos de sementes de soja inoculadas ou não com os fungos *Aspergillus flavus* e *Penicillium sp.* não sofre alterações durante o armazenamento por até 180 dias em condições controladas de temperatura e umidade.

Sementes de soja inoculadas artificialmente, com os fungos *Aspergillus flavus* e *Penicillium sp.*, apresentam diferentes desempenhos fisiológicos durante o armazenamento por até 180 dias

Maior concentração do teor de lignina em tegumento de sementes de soja não promove maior resistência à penetração dos fungos de armazenamento *Aspergillus flavus* e *Penicillium sp.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBO, G. N. et al. Seed microstructure and its relationship to water in isogenic lines and a cultivar of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Microstructure**, Chicago, v. 6, p. 91-102, 1987.

AGRAWAL, K.; MENON, K. Lignin content and seed coat thickness in relation to seed coat cracking in soybean. **Seed Research**: a journal devoted to the cause of seed science, New Delhi, v. 2, n. 1, p. 64-66, 1974.

ALVAREZ, P. J. C. et al. Relationship between soybean seed coat lignin content and resistance to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, Zurique, v. 25, n. 2, p. 209-214, Apr. 1997.

ALVES, E. **Introdução à microscopia eletrônica de varredura**. Lavras: FAEPE, 2004. 1 Apostila.

AMARAL, H. M. do; USBERTI, R. Detecção de fungos em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) armazenadas com e sem fungicida. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 3., 1983, Campinas. **Resumos...** Brasília: ABRATES, 1983. p. 80.

BACIU-MICLAUS, D. Contributions to the study of hrd seed and coat structures properties of soybeans. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Lincolnm, v. 35, p. 599-617, 1970.

BACKMAN, P. A; HAMMOND, J. M. Germination losses associated with delayed application of seed treatment fungicides after peanut shelling. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 60, n. 1, p. 1-3, Jan. 1976.

BALDONI, A. **Análises fisiológicas, ultraestruturais e expressão gênica de lignina em sementes de soja**. 2010. 63 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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, June 1995.

BAYER, Avanço no controle das doenças fúngicas de sementes. **Correio Agrícola**, São Paulo, v. 1, p. 20, 1996.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995.

BERJAK, P. Stored seeds: the problems caused by micro-organisms (with particular reference to the fungi). In: NASSER, L. C.; WETZEL, M. M.; FERNANDES, J.M. (Ed). **Seed Pathology: international advance course, proceedings**. Brasília: ABRATES, 1987. p. 38-50.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum, 1994.

BORÉM, A. Escape gênico: os riscos do escape gênico da soja no Brasil. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, n. 10, p. 101-107, set./out. 1999.

BRACCINI, A. L. et. al. 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, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Manual de análise sanitária de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009a.

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

CALERO, E.; WEST, S. H.; HINSON, K. Water absorption of soybean seed and associated causal factors. **Crop Science**, Madison, v. 21, n. 6, p. 926-933, 1981.

CAMPBELL, M. M.; SEDEROFF, R. R. Variation in lignin content and composition: mechanisms of control and Implications for the genetic Improvement of plants. **Plant Physiology**, Washington, v. 110, n. 1, p. 3-13, 1996.

CAMPELO, G. J. de J. et al. **Cultivar de soja BR-28 (Seridó)**. Teresina: EMBRAPA-UEPAE, 1987. (Comunicado Técnico, 38).

CARBONELL, E. et al. A. Interval mapping in the analysis of nonadditive quantitative trait loci. **Biometrics**, Washington, v. 48, n. 1, p. 305-315, Mar. 1992.

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. 4, n. 23, p. 331-339, Nov./Dec. 1995.

CARLSON, J. B.; LERSTEN, N. R. Reproductive morphology. In: WILCOX, J. R. (Ed.). **Soybeans: mprovement, production, and uses**. 2. ed. Madison: American Society of agronomy, 1987.

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

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

CAVARIANI, C. et al. Velocidade de hidratação em função de características do tegumento de sementes de soja de diferentes cultivares e localidades. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 31-39, 2009.

CAVINESS, C. E.; SIMPSOM JÚNIOR, A. M. Influence of variety and location on seed coat thickness of mature soybean seed. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Lincoln, v. 64, p. 102-108, 1974.

CERQUEIRA, W. P. et al. Retardamento da secagem de sementes de soja (*Glycine max* (L). Merrill). **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 4, n. 2, p. 56-63, 1979.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira**: grãos safra 2010/2011. Brasília: Conab, 2011. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 02 fev. de 2012.

CONWAY, G. **Produção de alimentos no século XXI**: biotecnologia e meio ambiente. São Paulo: Estação Liberdade, 2003.

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

COSTA, A. V. **Avaliação da qualidade fisiológica da semente de soja (*Glycine max* L. Merrill) com tegumento impermeável, produzida em três localidades do Brasil Central**. 1984. 146 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

COSTA, G. R.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Variabilidade para absorção de água nos grãos de feijão do germoplasma da UFLA. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 1017-1021, jul./ago. 2001.

CROCKER, W. **Growth of plants**. New York: Reinohold, 1948.

CHACHALIS, D.; SMITH, M. L. Imbibition behavior of soybean (*Glycine max* L. Merrill) accessions with different testa characteristics. **Seed Science and Technology**, Zurique, n. 28, p. 321-331, Sept./Oct. 2002.

CHRISTENSEN, C. M.; KAUFMANN, H. H. **Grain storage: the rice of fungi in quality loss**. Minneapolis: University of Minnesota, 1969.

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.; 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, May 1973.

DHINGRA, O. D. Prejuízos causados por microorganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 139-145, 1985.

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

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

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, Feb. 1981.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Disponível em: <http://pragawall.cenargen.embrapa.br/aiqweb/mi_chnl/fgbd01.asp#P>. Acesso em: 15 abr. 2010.

ESAU, K. **Anatomy of seeds plants**. New York: John Wiley, 1977.

EVERT, R. F. **Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development**. 3. ed. New Jersey: John Wiley, 2006.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Malaysia: Longman, 1996.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stage of soybean development**. Ames: Iowa State University, 1977.

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

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FERREIRA, D. F. **Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 2000.

FRANÇA NETO, J. B. et al. **Efeito do retardamento de colheita sobre a qualidade de duas linhagens de soja com tegumento impermeável à água**. Londrina: EMBRAPA, 1983.

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. (Circular Técnica, 9).

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. **The tetrazolium test for soybean seeds**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1998. (Documentos, 115).

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.

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

GLORIA, B. A. da; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**. 2. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2006.

GRIFFIN, H. D. Fungal physiology. 2. ed. New Jersey: John Wiley, 1994.

GRIS, C. F. **Qualidade fisiológica de sementes de soja convencional e RR associada ao conteúdo de lignina**. 2009. 134 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

HARMON, G. G.; PFLEGER, F. L. Pathogenicity and infection sites of *Aspergillus* species in stored seeds. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 64, n. 10, p. 1339-1344, Oct. 1974.

HARRINGTON, J. F. Packing seed for storage and shipment. **Seed Science Technology**, Zurich, v. 1, n. 3, p. 701-709, Mar. 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 "hardseeds" varieties of soybean, *Glycine max* (L.) Merrill. **Botanical Gazette**, New York, v. 148, n. 3, 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.

HENNING, A. A. et al. Efeito do potássio sobre a incidência de doenças da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 1985, 4., Brasília. **Resumos...** Brasília: ABRATES, 1985. p. 138.

HENNING, A. A. et al. Efeito do potássio sobre a incidência de doenças da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 1985, 4., Brasília. **Resumos...** Brasília: ABRATES, 1985. p. 138.

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, Springfield. **Proceedings...** Springfield: USDA-ARS, 1985. p. 54-58.

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.

ÍNDICE FUNGORUM. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/names/genusrecord.asp?RecordID=9257>>. Acesso em: 15 abr. 2010.

ITO, M. F. et al. Comparação de métodos para detecção de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 18, n. 3, p. 262-268, July/Sept. 1992.

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, Jan. 1978.

KIMATI, H. et al. Fungos. In: GALLI, F. et al. **Manual de fitopatologia**. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1978. p. 525-534.

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**, Alexandria, v. 16, n. 1, p. 545- 546, June 1981.

KRZYZANOWSKI, F. C. **A semente de soja como tecnologia e base para altas produtividades**. Londrina: Embrapa, 2008. (Circular Técnica, 55).

KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999.

LAGO, A. A. et al. Efeitos de diversos tratamentos fungicidas na longevidade de sementes de amendoim. **Semente**, Brasília, v. 2, n. 2, p. 26-30, 1976.

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

LOWRY, J. B. et al. Acid detergent dispersible lignin in tropical grasses. **Journal Science Food Agriculture**, Barking, v. 65, n. 1, p. 41-49, May 1994.

LUZ, W. C. Diagnose e controle de doenças da espiga de milho no Brasil. **Centro Nacional de Pesquisa do Trigo**, Passo Fundo, n. 5, p. 1-2, 1995.

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

MALOZZI, M. A. B.; CORREA, B. Fungos toxigênicos e micotoxinas. **Boletim Técnico do Instituto Biológico**, São Paulo, n. 2, p. 5-26, jul. 1998.

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

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

MCDONALD JÚNIOR, M. B. A review and evaluation of seed vigor tests. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, East Lansing, v. 65, n. 1, p. 109-139, Jan. 1975.

MCDONALD, M. B.; GUPTA, I. J.; SCHMITTHENNER, A. F. Effect of storage fungi on seed vigour of soybean. **Seed Science Technology**, Zurich, v. 21, n. 3, p. 581-591, June 1993.

MCDONALD, M. B.; VERTUCCI, C. W.; ROOS, E. C. Soybean seed imbibition: water absorption by seed parts. **Crop Science**, Madison, v. 28, n. 6, p. 993-997, 1988.

MCDUGALL, G. J. et al. Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. **Journal of Science Food and Agriculture**, London, v. 70, n. 2, p. 133-150, Feb. 1996.

MCLEAN, M.; DINI, M.; BERJAK, K. Contribution to the characterization of the seed storage fungi: *Aspergillus vesicolor* and *Aspergillus wentii*. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 12, n. 2, p. 437-446, 1984.

MELO, R. C. N. **Células & microscopia: princípios básicos e práticas**. Juiz de Fora: Ed. UFJF, 2002.

MENEZES, M. de. **Aspectos genéticos associados à qualidade fisiológica de sementes de soja**. 2008. 112 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MENEZES, M. et al. Aspectos químicos e estruturais da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 12, p. 1716-1723, dez. 2009.

MENTEN, J. O. M. Prejuízos causados por patógenos associados às sementes. In: MENTEN, J. O. M. (Ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. São Paulo: CibaAgro, 1995.

MICHEL, B. E.; RADCLIFFE, D. A computer program relating solute potential to solution composition for five solutes. **Agronomy Journal**, Madson, v. 87, n. 1, p. 131-136, Jan./Feb. 1995.

MILLER, S. S. et al. Early development of the seed coat of soybean. **Annals of Botany**, London, v. 84, n. 3, p. 297-304, Sept. 1999.

MILLS, J. T. Insects-fungus associations influencing seed deterioration. **Phytopathology**, New Delhi, v. 73, n. 2, p. 330-335, 1983.

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, May 1982.

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

MOORE, R. P. Tetr azolium staining for assessing seed quality. In: HEYDECKER, W. (Ed.). **Seed ecology**. London: Butterworth, 1973. p. 347-366.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: Macmillan, 1979.

NOODÉN, L. D.; BLAKLEY, K. A.; GRZYBOWSKI, J. M. Control of seed coat thickness and permeability in soybean. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 79, n. 2, p. 543-545, Oct. 1985.

OMETO, J. C. **Bioclimatologia vegetal**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1981.

PAIVA, L. E. et al. Efeito de *Aspergillus flavus* sobre sementes de soja envelhecidas por diferentes períodos. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 5, n. 2, p. 102, 1995.

PALUDZYSZYN FILHO, E.; KIIHL, R. A. S.; ALMEIDA, L. A. Desenvolvimento de cultivares de soja na região norte e nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE CULTURA DA SOJA NOS CERRADOS, 1992, Uberada. **Anais...** Piracicaba: POTAFOS, 1993. p. 255-265.

PANOBIANCO, M. et al. Electrical conductivity of soybean seed and correlation with seed coat lignin content. **Seed Science Technology**, Zurich, v. 27, n. 3, p. 945-949, 1999.

PEREIRA, L. A. G.; ANDREWS, C. H. Comparação de alguns testes de vigor para avaliação da qualidade de sementes de soja. **Semente**, Brasília, v. 2, n. 2, p. 15-25, 1976.

PEREIRA, O. P. Tratamento de sementes de milho no Brasil. In: MENTEN, J. O. M. (Ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. São Paulo: CibaAgro, 1995.

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.

POTTS, H. C. et al. Some influences of hard seedness 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**, Zurique, v. 10, n. 1, p. 81-100, Feb. 1988.

POWELL, A. A. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed for sowing. **Journal of Seed Technology**, Zurique, v. 10, n. 1, p. 81-100, Feb. 1988.

PRETE, C. E. C.; GUERRA, E. P. Qualidade fisiológica das sementes. In: DESRRO, D.; MONTALVÁN, R. (Org.). **Melhoramento genético de plantas**. Londrina: UEL, 1999. p. 661-676.

PUZZI, D. **Abastecimento e armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 2000.

RIBEIRO, J. E. L. do S. et al. **Flora da Reserva Ducke**: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central. Manaus: INPA, 1999.

ROSSETTO, C. A. V. et al. Efeito da calagem, da colheita e da secagem na qualidade sanitária de amendoim na seca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 5, p. 567-573, maio 2003.

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

SILVA, M. A. D. **Anatomia do tegumento de sementes de soja avaliadas com microscopia eletrônica de varredura**. 2003. 88 f. Tese (Doutorado em Produção e Tecnologia de Sementes) - Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal.

SILVA, M. A. D. da; VIEIRA, R. D.; SANTOS, J. M. dos. Influência do envelhecimento acelerado na anatomia da testa de sementes de soja, cv. Monsoy 8400. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 91-99, 2008.

SINCLAIR, J. B. Latent infection of soybean plants and seeds by fungi. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, n. 3, p. 220-224, Mar. 1991.

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

SPEHAR, C. R.; MONTEIRO, P. M. F. de O.; ZUFFO, N. L. Melhoramento genético da soja na região Centro-Oeste. In: SIMPÓSIO NOS CERRADOS, 1992, Uberaba. **Anais...** Piracicaba: POTAFOS, 1993. p. 229-253.

SRISUMA, N. et al. Cell wall polysaccharides of navy beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 39, n. 5, p. 855-858, May 1991.

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

TABOGA, S. R. Microscopia. In: RECCO-PIMENTEL, S. M.; CARVALHO, H. F. **A célula 2001**. São Paulo: Manole, 2001. cap. 2, p. 06-14.

TAVARES, D. Q. Características estruturais do tegumento de sementes permeáveis e impermeáveis de linhagens de soja, *Glycine max* (L.) Merrill. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 10, n. 2, p. 147-153, Apr./June 1987.

TEKRONY, D. M. et al. Effect of date of harvest maturity on soybean seed quality and *Phomopsis* sp. Seed infection. **Crop Science**, Madison, v. 24, n. 1, p. 437-440, Aug. 1982.

TERVET, I. W. The influence of fungi on storage on seed viability and seedling vigor of soybeans. **Phytopathology**, New Delhi, v. 35, p. 3-15, 1945.

USBERTI, R.; AMARAL, H. M. Fungicide dressing timing, seed size, seed origin and fungal incidence effects on groundnut (*Arachis hypogaea* L.) storability. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 24, n. 2, p. 699-706, 1999.

VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. **Journal Association Of Agricultural Chemistry**, Arlington, v. 51, p. 780-785, 1968.

VIEIRA, R. D. **Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de quatorze cultivares de soja (*Glycine max* (L) Merrill)**. 1980. 76 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

VIEIRA, R. D. et al. 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, 1983.

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

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**, London, v. 43. v. 6, p. 765-771, June 1979.

WETZEL, M. M. V. S. Fungos de armazenamento. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap. 9, p. 260-275.

WOLF, W. J.; BAKER, F. L. Scanning electron microscopy of soybeans. **Cereal Science Today**, Minneapolis, v. 43, n. 5, p. 1405-1408, Sept. 1978.

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

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

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

ANEXOS

Página

TABELA 1A	Análise de variância dos resultados da avaliação fisiológica de sementes de soja com diferentes teores de lignina.	96
TABELA 2A	Análise de variância dos resultados da avaliação de microscopia eletrônica de varredura de sementes de soja com diferentes teores de lignina.	96
TABELA 3A	Análise de variância dos resultados da avaliação do teor de lignina de sementes de soja, inoculadas ou não com <i>Aspergillus flavus</i> , armazenadas por até 180 dias.	96
TABELA 4A	Análise de variância dos resultados da avaliação fisiológica de sementes de soja com diferentes teores de lignina, inoculadas ou não com <i>Aspergillus flavus</i> , armazenadas por até 180 dias.	97
TABELA 5A	Análise de variância dos resultados ultraestruturais de sementes de soja com diferentes teores de lignina, inoculadas ou não com <i>Aspergillus flavus</i> , armazenadas por até 180 dias.	97
TABELA 6A	Análise de variância dos resultados da avaliação do teor de lignina de sementes de soja, inoculadas ou não com <i>Penicillium</i> , armazenadas por até 180 dias.	98
TABELA 7A	Análise de variância dos resultados da avaliação fisiológica de sementes de soja com diferentes teores de lignina, inoculadas ou não com <i>Penicillium</i> , armazenadas por 180 dias.	98

TABELA 8A	Análise de variância dos resultados ultraestruturais de sementes de soja com diferentes teores de lignina, inoculadas ou não com <i>Penicillium</i> , armazenadas por 180 dias.	99
------------------	--	----

Tabela 1A Análise de variância dos resultados da avaliação fisiológica de sementes de soja com diferentes teores de lignina.

FV	QM				
	GL	G (%)	E (%)	TZ	CE ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)
Cultivar (C)	5	75,56 *	143,6 *	7,36 n.s.	60,62 n.s.
Média		91,41	87,5	95,58	57,58
CV (%)		4,53	4,28	3,44	9,2

Tabela 2A Análise de variância dos resultados da avaliação de microscopia eletrônica de varredura de sementes de soja com diferentes teores de lignina.

FV	QM			
	GL	CP (μm)	CA (μm)	CPA (μm)
Cultivar (C)	5	79,93 *	530,34 *	990,71 *
Média		36,97	33,38	70,36
CV (%)		4,81	6,41	4,51

Tabela 3A Análise de variância dos resultados da avaliação do teor de lignina de sementes de soja, inoculadas ou não com *Aspergillus flavus*, armazenadas por até 180 dias.

FV	GL	QM
		TL (g%)
Fungo (F)	1	0,3478 n.s.
Cultivar (C)	5	0,1269 *
Armazenamento (A)	3	0,086 n.s.
F x C	5	0,065 n.s.
F x A	3	0,052 n.s.
C x A	15	0,024 n.s.
F x C x A	15	0,006 n.s.
Média		0,266
CV (%)		4,9

Tabela 4A Análise de variância dos resultados da avaliação fisiológica de sementes de soja com diferentes teores de lignina, inoculadas ou não com *Aspergillus flavus*, armazenadas por até 180 dias.

FV	GL	QM				
		%G	%E	TZ (%G)	CE ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)	
Fungo (F)	1	1059,38 *	2760,33 *	353,43 *	4994,22 *	
Cultivar (C)	5	1073,73 *	1935,48 *	1185,97 *	1007,28 *	
Armazenamento (A)	3	2263,29 *	8813,80 *	690,84 *	22174,98 *	
F x C	5	37,98 n.s.	113,23 *	146,62 *	244,70 n.s.	
F x A	3	14,68 n.s.	445,83 *	183,52 *	2007,59 *	
C x A	15	87,91 *	407,73 *	183,65 *	158,20 n.s.	
F x C x A	15	23,40 n.s.	62,46 *	164,44 *	133,28 n.s.	
Média		85	79	93	47,39	
CV (%)		4,18	4,43	4,12	19,8	

Tabela 5A Análise de variância dos resultados ultraestruturais de sementes de soja com diferentes teores de lignina, inoculadas ou não com *Aspergillus flavus*, armazenadas por até 180 dias.

FV	GL	QM		
		CP (μm)	CA (μm)	CPA (μm)
Fungo (F)	1	404,22 n.s.	769,34 n.s.	2082,94 n.s.
Cultivar (C)	5	151,42 *	874,61 *	1544,95 *
Armazenamento (A)	3	22,20 n.s.	347,52 n.s.	456,14 n.s.
F x C	5	45,74 n.s.	134,76 n.s.	189,75 n.s.
F x A	3	348,12 n.s.	256,98 n.s.	217,53 n.s.
C x A	15	84,80 *	219,70 n.s.	482,53 n.s.
F x C x A	15	78,93 n.s.	211,65 n.s.	240,71 n.s.
CV (%)		15,56	31,85	21,84

Tabela 6A Análise de variância dos resultados da avaliação do teor de lignina de sementes de soja, inoculadas ou não com *Penicillium sp.*, armazenadas por até 180 dias.

FV	GL	QM	
		TL (g%)	
Fungo (F)	1	0,395	n.s.
Cultivar (C)	5	0,1349	*
Armazenamento (A)	3	0,092	n.s.
F x C	5	0,064	n.s.
F x A	3	0,057	n.s.
C x A	15	0,026	n.s.
F x C x A	15	0,007	n.s.
Média		0,258	
CV (%)		4,6	

Tabela 7A Análise de variância dos resultados da avaliação fisiológica de sementes de soja com diferentes teores de lignina, inoculadas ou não com *Penicillium*, armazenadas por 180 dias.

FV	QM				
	GL	%G	%E	TZ (%G)	CE ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)
Fungo (F)	1	238,528 *	2677,54 *	374,08 *	1821,01 *
Cultivar (C)	5	1841,98 *	2738,94 *	956,23 *	968,76 *
Armazenamento (A)	3	2394,81 *	5497,290 *	101,19 n.s.	11716,89 *
F x C	5	11,17 n.s.	269,69 *	40,53 n.s.	80,92 n.s.
F x A	3	13,36 n.s.	466,60 *	436,30 *	3542,50 *
C x A	15	135,56 *	177,44 *	81,05 *	230,96 *
F x C x A	15	6,50 n.s.	111,98 *	122,20 *	371,40 *
Média		85	79	93	42,69
CV (%)		3,69	4,84	5,86	19,9

Tabela 8A Análise de variância dos resultados ultraestruturais de sementes de soja com diferentes teores de lignina, inoculadas ou não com *Penicillium*, armazenadas por 180 dias.

FV	GL	QM		
		CP (μm)	CA (μm)	CPA (μm)
Fungo (F)	1	404,22 ^{n.s.}	769,34 ^{n.s.}	2082,94 ^{n.s.}
Cultivar (C)	5	154,59 *	924,79 *	1671,52 *
Armazenamento (A)	3	89,68 ^{n.s.}	918,21 *	1430,66 *
F x C	5	45,74 ^{n.s.}	134,76 ^{n.s.}	189,75 ^{n.s.}
F x A	3	348,12 ^{n.s.}	256,98 ^{n.s.}	217,53 ^{n.s.}
C x A	15	129,34 *	380,87 *	606,52 *
F x C x A	15	76,35 ^{n.s.}	171,65 ^{n.s.}	140,68 ^{n.s.}
CV (%)		14,61	29,31	18,33