



VENICIUS URBANO VILELA REIS

**USO DA VERMICULITA NO TESTE DE GERMINAÇÃO DE
SEMENTES TRATADAS DE SOJA: IMPLICAÇÕES NA
AVALIAÇÃO E A VALIDAÇÃO METODOLÓGICA**

**LAVRAS - MG
2024**

VENICIUS URBANO VILELA REIS

**USO DA VERMICULITA NO TESTE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES
TRATADAS DE SOJA: IMPLICAÇÕES NA AVALIAÇÃO E A VALIDAÇÃO
METODOLÓGICA**

Dissertação 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 Mestre.

Prof. Dr. Everson Reis Carvalho
Orientador

**LAVRAS-MG
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Reis, Venicius Urbano Vilela.

Uso da vermiculita no teste de germinação de sementes tratadas
de soja: implicações na avaliação e a validação metodológica /
Venicius Urbano Vilela Reis. - 2024.

92 p. : il.

Orientador(a): Everson Reis Carvalho.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Controle de qualidade. 2. Teste de germinação. 3. Rolo de
papel + vermiculita (RP+V). I. Carvalho, Everson Reis. II. Título.

VENICIUS URBANO VILELA REIS

**USO DA VERMICULITA NO TESTE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES
TRATADAS DE SOJA: IMPLICAÇÕES NA AVALIAÇÃO E A VALIDAÇÃO
METODOLÓGICA**

**USE OF VERMICULITE IN THE GERMINATION TEST OF TREATED SOYBEAN
SEEDS: IMPLICATIONS FOR EVALUATION AND METHODOLOGICAL
VALIDATION**

Dissertação 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 Mestre.

APROVADA em 01 de março de 2024.

Prof. Dr. Everson Reis Carvalho

Profa. Dra. Maria Laene Moreira De Carvalho

Profa. Dra. Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias

UFLA

CQ SEEDS

UFV

Prof. Dr. Everson Reis Carvalho
Orientador

**LAVRAS-MG
2024**

Deus, minha fortaleza.

Aos meus pais Sonderson e Delany, meu irmão Leandro, minha namorada Ana, minha família, amigos, professores e colegas que me acompanharam em minha jornada de aprendizado.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar forças e nunca me deixar desistir, pelas graças recebidas e por permitir mais essa vitória.

Aos meus pais, Delany e Sonderson (Dinho) por serem exemplo e por todo trabalho que enfrentaram para essa conquista. Ao meu irmão Leandro e minha namorada Ana Beatriz pela presença, apoio, incentivo, ensinamentos e companheirismo.

Aos meus Avós e toda família pelo apoio e confiança.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) pelas oportunidades de aprendizado e ensinamentos dessa renomada instituição de ensino.

Ao meu orientador Prof. Dr. Everson Reis Carvalho, pelo exemplo, amizade, incentivo e disponibilidade sempre que precisei.

Ao Prof. Dr. André Delly Veiga, professor do IF Sul de Minas - Campus Machado, meu primeiro orientador, pelo incentivo, amizade e sobretudo confiança.

Ao professor Dr. João Almir Oliveira pela oportunidade de trabalho em sua equipe durante minha formação. Agradeço aos demais professores (Édila, Maria Laene, Renato, Raquel e Heloísa), à pesquisadora Sttela e funcionários do Laboratório Central de em Sementes da UFLA (LCPS) (Geraldo, Jaqueline, Rose e Rafa), pelos ensinamentos, amizade, e oportunidade de trabalhar com uma equipe tão renomada.

Aos amigos e companheiros de trabalho do LAS, principalmente a Amanda, Debora, Danilo, Hellen, José Enrico, Ariela, Rodrigo, Jhonata e outros pelo apoio, ajuda nos experimentos e amizade em todos esses anos.

Ao programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia – UFLA e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo concedimento de minha bolsa.

Aos companheiros da Republica Pé-de-Cana pela amizade verdadeira, apoio e por tantos momentos divertidos que passamos juntos nesses anos de vida universitária.

A todos meus amigos, presentes ou distantes, pela amizade, confiança e torcida.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições para este trabalho.

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma, para a minha formação e essa conquista.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Obrigado a todos!

RESUMO

Em testes de germinação de sementes de soja tratadas com produtos fitossanitários inseticidas, principalmente com neonicotinoides, tem sido comum relatos de anormalidades nas plântulas, principalmente em alguns substratos, como o rolo de papel (RP). Além do substrato, outro fator que afeta a avaliação da germinação de sementes de soja é o uso da técnica de pré-condicionamento das sementes, antes do teste, pois essa pode amenizar os danos por embebição das sementes. A combinação de sementes de soja com baixa umidade e tratadas com produtos fitossanitários tem gerado algumas inconsistências nos resultados do teste de germinação em RP. Para que os resultados desse teste sejam representativos, é crucial empregar metodologia adequada que favoreça a real expressão da germinação e minimize possíveis efeitos fitotóxicos e/ou danos por embebição. Assim novas metodologias devem ser desenvolvidas e avaliadas, como exemplo rolo de papel com adição de vermiculita entre as folhas (RP+V). Foram conduzidos três estudos com os seguintes objetivos principais: avaliar a velocidade de embebição utilizando o substrato de RP+V em sementes de soja e o efeito fitotóxico de inseticidas neonicotinoides; avaliar a necessidade de pré-condicionamento ao empregar o substrato RP+V em função das umidades dos lotes de sementes; avaliar a viabilidade do substrato RP+V e validar estatisticamente seu uso em laboratórios de análise de sementes. O substrato RP+V proporcionou aumento na velocidade de embebição e desenvolvimento das plântulas; maior expressão da germinação do lote, independente do tratamento de sementes; atenuação dos efeitos fitotóxicos de inseticidas neonicotinoides em relação os substratos tradicionais RP e entre areia (EA); e possibilidade de realizar a contagem de germinação aos 7 dias. O uso do pré-condicionamento aumentou a expressão da qualidade em lotes de sementes de soja, tratadas e não tratadas, de lotes com umidade entre 12 e 8%, sendo o efeito mais evidente para lotes com umidade inferior a 10% sem a utilização do pré-condicionamento. Mesmo com uso de RP+V foi necessário a utilização de pré-condicionamento, para lotes de sementes de soja entre 8 e 12% de umidade. O substrato RP+V promoveu maior expressão da qualidade em relação à RP e EA, com maior desenvolvimento de plântulas fortes, o que facilita a avaliação do teste de germinação, eliminando assim possíveis subjetividades. Os dados de plântulas normais de soja avaliadas com o substrato RP+V apresentaram repetibilidade, reprodutibilidade, precisão e acurácia dentro dos parâmetros críticos de 1% e 5% de significância. Portanto, a metodologia proposta com o substrato RP+V é adequada e confiável para ser implementada de forma rotineira na avaliação da germinação de sementes de soja, sobretudo para as tratadas com produtos fitossanitários.

Palavras-chave: controle de qualidade; fitotoxidez; *Glycine max L.*; pré-condicionamento; rolo de papel + vermiculita (RP+V); tratamento químico.

ABSTRACT

In germination tests of soybean seeds treated with insecticidal phytosanitary products, especially neonicotinoids, it has been common to report abnormalities in the seedlings, especially in some substrates, such as paper roll (PR). In addition to the substrate, another factor that affects the assessment of soybean seed germination is the use of the seed preconditioning technique before the test, as this can mitigate the damage caused by soaking the seeds. The combination of soybean seeds with low humidity and treated with phytosanitary products has generated some inconsistencies in the results of the germination test in PR. In order for the results of this test to be representative, it is crucial to use an appropriate methodology that favors the true expression of germination and minimizes possible phytotoxic effects and/or soaking damage. New methodologies should therefore be developed and evaluated, such as paper rolls with vermiculite added between the leaves (PR+V). Three studies were carried out with the following main objectives: to assess the speed of soaking using the PR+V substrate in soybean seeds and the phytotoxic effect of neonicotinoid insecticides; to assess the need for preconditioning when using the PR+V substrate depending on the humidity of the seed batches; to assess the viability of the PR+V substrate and statistically validate its use in seed analysis laboratories. The PR+V substrate provided an increase in the speed of soaking and seedling development; greater expression of batch germination, regardless of seed treatment; attenuation of the phytotoxic effects of neonicotinoid insecticides compared to the traditional PR and sand (BS) substrates; and the possibility of counting germination at 7 days. The use of preconditioning increased the expression of quality in batches of soybean seeds, both treated and untreated, from batches with a moisture content of between 12 and 8%, with the effect being more evident for batches with a moisture content of less than 10% without the use of preconditioning. Even with the use of PR+V, preconditioning was necessary for batches of soybean seeds between 8 and 12% moisture. The PR+V substrate promoted greater expression of quality compared to PR and BS, with greater development of strong seedlings, which facilitates evaluation of the germination test, thus eliminating possible subjectivity. The data on normal soybean seedlings evaluated with the PR+V substrate showed repeatability, reproducibility, precision and accuracy within the critical parameters of 1% and 5% significance. Therefore, the methodology proposed with the PR+V substrate is suitable and reliable for routine implementation in assessing the germination of soybean seeds, especially those treated with phytosanitary products.

Keywords: chemical treatment; *Glycine max L.*; paper roll + vermiculite (PR+V); phytotoxicity; preconditioning; quality control.

INDICADORES DE IMPACTO

O presente estudo, delineou-se com o propósito de examinar os impactos tecnológicos e econômicos. Entre os impactos tecnológicos, destacaram-se a potencial implementação de uma nova metodologia no setor sementeiro, a qual acarreta diversos benefícios, tais como a influência na comercialização de sementes de alta qualidade aos agricultores e, conseqüentemente, o aumento da produção de alimentos de maneira sustentável. Isso ocorre devido à utilização do tratamento de sementes, que resulta em uma menor utilização por área defensivos agrícolas para o controle inicial de patógenos e pragas. Do ponto de vista econômico, o presente estudo evidenciou a redução do consumo de energia elétrica nos laboratórios de sementes, mediante a antecipação da contagem de germinação, bem como a diminuição do descarte de sementes, pois esta metodologia demonstra de forma mais precisa o potencial germinativo das sementes. Adicionalmente, este estudo contou com a colaboração de diversos laboratórios de análise de sementes localizados no território brasileiro, tendo impacto no setor sementeiro. Esta colaboração foi realizada com o apoio de três docentes, cinco discentes e três técnicos do departamento de Agricultura e Estatística da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Este estudo apresenta potencial para influenciar a alteração da legislação nacional de sementes, uma vez que fornece dados que demonstram os benefícios da adoção desta metodologia, bem como a sua validação em termos de reprodutibilidade e repetibilidade.

IMPACT INDICATORS

This study was designed to examine the technological and economic impacts. Among the technological impacts, we highlight the potential implementation of a new methodology in the national seed sector, which brings several benefits, such as accurately assessing the quality of treated soybean seeds and this directly influences the marketing of high quality seeds to farmers, seeds which are essential for high yields and consequently contribute to sustainable food production with the aim of eradicating hunger in the world. From an economic point of view, this study could reduce energy consumption in seed quality analysis laboratories by bringing forward the final count of the germination test. It will also prevent or reduce the disposal of batches of treated soybean seeds for sale due to the use of tests unsuitable for this material, since the methodology developed and validated in the dissertation demonstrated the germination potential of the seeds more accurately. In addition, this study had the collaboration of several seed analysis laboratories located throughout Brazil, with a direct impact on the seed sector. This collaboration was carried out with the support of three lecturers, five students and three technicians from the Department of Agriculture and Statistics at the Federal University of Lavras (UFLA). This study has the potential to scientifically support changes to national seed legislation, with the inclusion of the methodology under study as an official option for analyzing soybean seed germination and issuing bulletins for commercialization.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	11
1 INTRODUÇÃO GERAL	11
REFERÊNCIAS	17
SEGUNDA PARTE	20
ARTIGO 1 - USO DE VERMICULITA NO TESTE DE ROLO DE PAPEL PARA GERMINAÇÃO DE SEMENTES TRATADAS DE SOJA E SUAS IMPLICAÇÕES.	20
ARTIGO 2 - É NECESSÁRIO UTILIZAR O PRÉ-CONDICIONAMENTO COM A METODOLOGIA DE ROLO DE PAPEL + VERMICULITA PARA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE SOJA?	42
ARTIGO 3 - VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA DO TESTE DE GERMINAÇÃO COM ROLO DE PAPEL E VERMICULITA (RP+V) PARA SEMENTES DE SOJA TRATADAS	60
TERCEIRA PARTE	91
1 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	91

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é amplamente reconhecido como uma potência no setor agrícola, destacando-se pela produção de grãos, carnes e biocombustíveis, entre outras commodities agrícolas. Dentre esses produtos, a soja (*Glycine max.* (L.) Merrill) assume uma posição de destaque como um dos principais produtos da cadeia do agronegócio, desempenhando um papel crucial na economia global. Além de ser a principal oleaginosa cultivada anualmente no mundo, a soja também figura como o principal produto do agronegócio brasileiro (Seixas *et al.*, 2020).

O sucesso da soja no Brasil é atribuído à progressão do conhecimento e ao aproveitamento dos avanços tecnológicos colocados à disposição dos agricultores, sendo que grande parte destes avanços se faz através da utilização de sementes. Conseqüentemente, observa-se um aumento constante na procura por sementes, com destaque para aquelas com elevados padrões de qualidade (Santos *et al.*, 2018).

A semente é um dos um dos fatores de maior relevância na determinação do potencial produtivo de uma cultura. É nela em que está concentrado todo o conjunto de avanços tecnológicos, visando disponibilizar aos agricultores cultivares mais adaptadas a diferentes regiões e, conseqüentemente, mais produtivas. O uso de sementes de alta qualidade se apresenta como um componente importante para assegurar o estabelecimento de uma lavoura com uma densidade adequada de plantas e plântulas vigorosas, resultando em níveis elevados de produtividade (Bagatelli *et al.*, 2019).

Bigolin *et al.* (2022) evidenciaram que a produtividade de lotes de soja de alto vigor, determinado por meio do teste de emergência de plântulas, pode superar em até 28% a produtividade de lotes de baixo vigor. De maneira similar, Reis *et al.* (2022) indicaram que lotes de sementes de milho com níveis reduzidos de vigor, determinado pelo teste de frio, apresentaram baixa emergência em campo, menor altura das plantas, menor cobertura vegetal e, como resultado, uma redução significativa na produtividade.

Sendo assim, diversas técnicas de manejo são empregadas com o propósito de obter sementes de alta qualidade, desde a fase inicial de estabelecimento do campo de produção até o momento do armazenamento e entrega dos lotes. Uma técnica amplamente difundida no contexto do processamento pós-colheita de sementes é a aplicação de tratamentos químicos

com produtos fitossanitários e também produtos funcionais. A eficácia dessa técnica pode ser influenciada por diversos fatores, que incluem a tecnologia de aplicação (Medeiros *et al.*, 2023), volume de calda (Santos *et al.*, 2018), assertividade de dose (Reis *et al.*, 2023), umidade ideal para o tratamento (Nardelli, 2023) e tratamentos adicionais, a exemplo do uso de pó secante (Santos *et al.*, 2023), além da disponibilidade hídrica do solo (Carvalho *et al.*, 2021).

Atualmente, grande parte dos tratamentos químicos em sementes é realizada antes do armazenamento, predominantemente por meio do emprego do tratamento industrial de sementes (TSI) (Moraes *et al.*, 2022; Reis *et al.*, 2023). Nesse procedimento, as sementes são submetidas ao tratamento na própria unidade de beneficiamento de sementes e então envasadas em embalagem final e armazenadas até o momento da semeadura.

Por outro lado, o TSI pode apresentar certas limitações, como a possibilidade de que alguns ingredientes ativos (i.a.) utilizados podem afetar negativamente a qualidade das sementes, quando armazenados por períodos inadequadamente longos em função do tipo de molécula (Carvalho *et al.*, 2020). Esse efeito adverso é notado principalmente quando se faz uso de inseticidas neonicotinoides, como observado por Carvalho *et al.* (2022) e Santos *et al.* (2023). Neonicotinoides estão entre as moléculas inseticidas mais difundidas no uso agrícola, principalmente após o surgimento dos transgênicos contra lagartas, o que aumentou a pressão de sugadores, sendo está uma das moléculas mais eficientes, principalmente no estágio inicial da cultura (Blacquiere *et al.*, 2012).

Contudo, esses efeitos adversos causados pelo TSI podem ter intensidades variadas em função do tipo de teste fisiológico utilizado para a avaliação da qualidade das sementes, ou muitas vezes esses danos por fitotoxidez podem ocorrer somente em testes de laboratório e não ocorrer em campos de produção.

Para Rocha *et al.* (2020), os tratamentos com moléculas inseticidas afetaram a germinação e a avaliação das plântulas de soja, com maior fitotoxidez em relação à fungicidas, e que metodologias, como o teste de germinação, ocasionaram maior fitotoxidez às plântulas e, consequentemente, prejudicando as avaliações e os resultados do teste.

O teste de germinação para sementes de soja, tanto tratadas quanto não tratadas, é o teste que avalia a aprovação do lote para comercialização, exigido pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), com valores mínimos de qualidade para comercialização no Brasil (Brasil, 2013). Sendo assim, este é um dos testes mais utilizados no mundo por sua confiabilidade, pois

existem métodos padronizados para conduzir o teste de germinação, como os descritos pela ISTA (International Seed Testing Association) e outras organizações semelhantes.

O teste de germinação tem como principal objetivo determinar o potencial máximo de germinação de um lote de sementes, uma vez que é conduzido sob condições ideais de temperatura, umidade, iluminação e oxigenação, o qual pode ser usado para comparar a qualidade de diferentes lotes, estimar o valor para semeadura em campo e também é referência para comercialização de lotes (Brasil, 2009). Além disso, é um método padronizado, com boa replicabilidade dos resultados, dentro de níveis aceitáveis de variação, desde que as orientações estabelecidas nas Regras para Análise de Sementes (RAS) sejam atendidas. Os dois substratos preconizados para análises oficiais no Brasil para sementes de soja são os substratos em rolo de papel (RP) e entre areia (EA) (Brasil, 2009).

A escolha do substrato do teste é importante pois influencia diretamente na germinação, em função de sua capacidade de retenção de água, estrutura e aeração, afeta o fornecimento de água e de oxigênio para as sementes e oferece suporte físico para o desenvolvimento da plântula (Mondo *et al.*, 2008). Portanto, a escolha adequada do substrato é essencial para garantir resultados precisos nos testes de germinação, especialmente quando se trata de sementes tratadas com produtos fitossanitários. Existem muitos relatos de laboratórios de análises de sementes de inconsistências de resultados entre germinação de sementes tratadas, sobretudo com o substrato RP, em relação ao observado em campo.

No caso de sementes tratadas com produtos fitossanitários, é importante destacar que o teste de germinação pode indicar rejeição de lotes que, se semeados no campo, podem apresentar um desempenho satisfatório. Esse comportamento das sementes é atribuído às particularidades do teste de germinação, pois geralmente ocorre uma concentração de produtos fitossanitários na superfície e no entorno das sementes tratadas quando estas permanecem em contato com o papel germitest umedecido, potencialmente podendo causar toxicidade às plântulas. No entanto, quando essas mesmas sementes são semeadas no solo, os produtos fitossanitários se dispersam, permitindo que as plântulas cresçam sem anormalidades (Xavier, *et al.*, 2021).

Devido a essas ocorrências, ajustes e novas metodologias estão sendo estudadas para contribuir com maior acurácia da avaliação da qualidade fisiológica das sementes, sobretudo tratadas com produtos fitossanitários, por serem grande parte do mercado atualmente. Ressalta-se que, embora na RAS não tenha distinção de procedimentos para sementes tratadas com

produtos fitossanitários em relação as não tratadas, alguns pesquisadores têm proposto alternativas de substratos para o teste de germinação de sementes de soja tratadas com produtos fitossanitários (Rocha *et al.*, 2020; Tunes *et al.*, 2021). Essas pesquisas exploram metodologias que buscam superar as limitações do teste de germinação tradicional quando aplicado a sementes tratadas com produtos fitossanitários.

Um destes substratos alternativos é a vermiculita expandida entre papel germitest (RP+V), pois sua capacidade de absorção de produtos fitossanitários pode favorecer uma adequada avaliação das sementes tratadas (Cuong; Hue; Kim, 2019; Rocha *et al.*, 2020).

A vermiculita é um mineral semelhante à mica, composto principalmente por silicatos hidratados de alumínio e magnésio. Suas propriedades de superfície, incluindo área superficial, hidrofobicidade, porosidade e carga superficial negativa, tornam-na apropriada como material absorvente e transportador (Nunes *et al.*, 2023). Consequentemente, existe a possibilidade de que a vermiculita adsorva compostos químicos que, quando somente no papel de germinação, podem estar excessivamente concentrados, amenizando possíveis anormalidades nas plântulas ocasionadas por fitotoxidez (Rocha *et al.*, 2020; Tunes *et al.*, 2020).

Os resultados que apontam para a mitigação dos efeitos fitotóxicos podem estar correlacionados com a capacidade da vermiculita auxiliar na retenção do produto químico e de reduzir a taxa de embebição das sementes (Han; Sung; Hsueh, 2023). Esse último fenômeno resulta em menor absorção dos i.a. durante o teste de germinação. Ao limitar a absorção de água e produtos fitossanitário, de maneira análoga ao que ocorre no campo, esse substrato pode contribuir para atenuar os potenciais impactos fitotóxicos causados pelos produtos fitossanitários, quando em alta concentração, no desenvolvimento das plântulas ao longo do processo de germinação (Rocha *et al.*, 2023). No entanto, é importante salientar que essas suposições e hipóteses necessitam de uma avaliação mais aprofundada por meio de estudos específicos, podendo assim sustentar novas metodologias com maior acurácia e confiabilidade.

Diante dessa hipótese de uma absorção mais gradual de água durante o processo de germinação empregando o substrato RP+V pode contribuir para atenuar os danos causados pela concentração dos produtos fitossanitários, além de danos de embebição no teste de germinação que ocorrem na fase I da germinação fisiológica.

O fenômeno da germinação fisiológica de sementes engloba uma série de processos físicos e fisiológicos que se iniciam com a embebição de sementes secas, caracterizada pela rápida absorção de água e reparação metabólica (fase I). Esta etapa é sucedida por uma fase II

de absorção reduzida e reativação metabólica e culmina em uma fase III de retomada do crescimento do eixo embrionário, geralmente a protusão da radícula, ou seja, ocorrem processos como a absorção de água, o alongamento e as divisões celulares, levando ao aumento do número de células (Bewley *et al.*, 2013).

Esses danos de embebição, que ocorrem na fase I, são especialmente relevantes em lotes de sementes com baixa umidade a 11% (Toledo *et al.*, 2010). Sendo assim, a utilização do pré-condicionamento pode amenizar danos causados pela rápida absorção de água no processo de reparação metabólica de componentes subcelulares (fase I), bem como da membrana plasmática (Silva; Villela, 2011). Por outro lado, a utilização desta técnica aumenta em até 24h a condução do teste de germinação, dificultando o planejamento dentro de laboratórios de análise de sementes.

Portanto, a utilização do substrato RP+V poderia eliminar a necessidade de pré-condicionamento para sementes de soja secas (<11%), adiantando a avaliação da germinação em até 24 horas, visto seu potencial de absorção mais gradual de água durante o processo de germinação.

Silva (2016), em um estudo avaliando diferentes substratos, RP + areia, RP + pré-condicionamento, para o teste de germinação de sementes de soja, observou resultados satisfatórios para o substrato com sementes pré-condicionadas. Silva e Villela (2011), relataram que o desempenho germinativo provavelmente está relacionado ao fato do pré-condicionamento reparar a integridade das membranas celulares durante o processo de absorção de água diminuindo, assim, os potenciais danos causados às membranas pela rápida absorção em água. O período de pré-condicionamento para sementes de soja pode variar entre 16 e 24 horas a 25 °C (Brasil, 2009), o que muitas vezes pode dificultar o planejamento das análises em laboratórios.

Além das avaliações científicas, técnicas e de aplicabilidades funcionais de novas metodologias de análises de sementes são necessárias validações com procedimentos estatísticos. Os métodos de validação metodológica, normalmente utilizados para sementes, são definidos pela ISTA (International Seed Testing Association). São procedimentos que devem ser utilizados no desenvolvimento de um método para novas espécies, na comparação de diferentes métodos para escolha do mais adequado à situação, aperfeiçoamento de um método específico ou comparação de métodos tradicionais com um novo (ISTA, 2007).

Na validação de método para testes de qualidade de sementes, pela ISTA, a acurácia dos resultados é avaliada pela repetibilidade e a reprodutibilidade. A repetibilidade é a precisão nas condições em que se obtêm resultados de testes independentes com o mesmo método, no mesmo laboratório, pelo mesmo analista e a mesma amostra, em intervalos de tempo curtos. A reprodutibilidade é semelhante, mas o teste pode ser realizado em laboratórios diferentes e com analistas diferentes (ISTA, 2007). Alguns trabalhos no Brasil vem utilizando a metodologia de validação da ISTA, para novas metodologias relacionadas a análise de imagens (França Silva *et al.*, 2019) e análises fisiológicas (Rocha *et al.*, 2023).

O uso do substrato RP+V no teste de germinação já é uma realidade na cadeia de produção de sementes de milho, porém para outras espécies este substrato também tem sido estudado, principalmente para sementes de soja tratadas com produtos fitossanitários. O objetivo primordial é obter informações com maior acurácia e representatividade, uma vez que estas são atualmente limitadas devido a relação substrato e sementes tratadas, para melhor avaliar a qualidade fisiológica real das sementes. Isso permite evitar o descarte de lotes com potencial de comercialização de forma equivocada e, ao mesmo tempo, também impedir a comercialização de sementes de baixa qualidade.

Dentro desse contexto e reconhecendo a importância do tratamento químico das sementes de soja, o objetivo geral foi obter informações científicas e implicações do uso da nova metodologia com o substrato RP+V no controle de qualidade de sementes de soja, até sua validação estatística. Nos estudos conduzidos os objetivos específicos foram: avaliar a velocidade de embebição e o efeito fitotóxico de inseticidas neonicotinoides utilizando a metodologia com o substrato RP+V em sementes de soja de diferentes cultivares; avaliar a necessidade de pré-condicionamento das sementes ao empregar o substrato RP+V em função do grau de umidade dos lotes; avaliar a viabilidade da metodologia com o substrato RP+V e verificar a possibilidade de validar seu uso rotineiro em laboratórios de análise de sementes.

REFERÊNCIAS

- BAGATELI, J. R. *et al.* Productive performance of soybean plants originated from seed lots with increasing vigor levels. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 2, p. 151-159, 2019. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n2199320>
- BIGOLIN, G. *et al.* Influência do vigor de sementes no rendimento e qualidade fisiológica de sementes de soja. **Enciclopédia Biosfera**, v. 19, n. 40, 2022. <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2022b/influencia.pdf>
- BLACQUIERE, T. *et al.* Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, p. 973-992, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0863-x>
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ ACS, 2009. 395p.
- CARVALHO, E. R. *et al.* Physiological and enzymatic monitoring of treated seeds of cultivars soybean during storage. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.17, n.3, p.e2077-e2077, 2022. <https://doi.org/10.5039/agraria.v17i3a2077>
- CARVALHO, E. R. *et al.* Phytotoxicity in soybean seeds treated with phytosanitary products at different application times. **Journal of Seed Science**, v. 42, p. e202042036, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42237847>
- CARVALHO, E. R. *et al.* Soil water restriction and performance of soybean seeds treated with phytosanitary products. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 26, p. 59-66, 2021. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v26n1p59-66>
- CUONG, N. D.; HUE, V. T.; KIM, Y. S. Thermally expanded vermiculite as a risk-free and general-purpose sorbent for hazardous chemical spillages. **Clay Minerals**, v. 54, n. 3, p. 235-243, 2019. <https://doi.org/10.1180/clm.2019.34>
- FRANÇA SILVA, F. *et al.* Radiographic analysis to test maize seeds for the presence of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Seed Science and Technology**, v.47, n.3, p. 248-259, 2019. <https://doi.org/10.15258/sst.2019.47.3.02>
- HAN, C. T.; SUNG, Y.; HSUEH, M. T. Imbibition treatments on the germination of white winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) Seeds. **The Horticulture Journal**, v. 92, n. 2, p. 162-170, 2023. <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-387>
- ISTA. International Seed Testing Association. Method validation for seed testing Bassersdorf, 2007.
- MEDEIROS, J. C. *et al.* Quality of corn seed industrial seed treatment (IST) and on-farm treatment (OFT) in Brazilian agribusiness. **Journal of Seed Science**, v. 45, p. e202345017, 2023. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v45267344>

MONDO, V. H. V. *et al.* Teste de germinação de sementes de *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan (Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 177-183, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222008000200022>

MORAES, L. F. S. *et al.* Physiological quality of corn seeds treated with insecticides and stored at different temperatures. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 57, p. e02665, 2022. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2022.v57.02665>

NARDELLI, A. C. P. **Qualidade de sementes de soja armazenadas e tratadas com produtos fitossanitários**. 2023. 114 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2023. <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/56103>

NUNES, F.C. *et al.* **Clay Composites: Physicochemical Characterization**. In Clay Composites: Environmental Applications, 2023. 600p.

REIS, L. V. *et al.* Treatment technologies for soybean seeds: Dose effectiveness, mechanical damage and seed coating. **Ciência e Agrotecnologia**, v.47, p. e013622, 2023. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202347013622>

REIS, V. U. V. *et al.* Vigor of maize seeds and its effects on plant stand establishment, crop development and grain yield. **Journal of Seed Science**, v. 44, p. e202244020, 2022. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v44257527>

ROCHA, D. K. *et al.* Does the substrate affect the germination of soybean seeds treated with phytosanitary products?. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 44, p. e020119, 2020. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044020119>

ROCHA, D. K. *et al.* Validation of the paper roll plus vermiculite (PR+ V) germination test methodology for treated corn seeds. **Journal of Seed Science**, v. 45, p. e202345026, 2023. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v45274506>

SANTOS, R. F. *et al.* Physiological potential of soybean seeds treated and stored under uncontrolled conditions. **Journal of Seed Science**, v. 45, p. e202345005, 2023. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v45262942>

SANTOS, S. F. *et al.* Composition and volumes of slurry in soybean seeds treatment in the industry and physiological quality during storage. **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 1, p. 67-74, 2018. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n1185370>

SEIXAS, C. D. S. *et al.* **Tecnologias de produção de soja**. 1. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2020. 347 p.

SILVA, K. R. G.; VILLELA, F. A. Pré-hidratação e avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, p. 331-345, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000200016>

SILVA, N. D. **Substratos e metodologia alternativa para o teste de germinação em sementes de soja tratadas quimicamente**. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas. <http://guaiaca.ufpel.edu.br/handle/prefix/4543>

TOLEDO, M. Z. *et al.* Imbibition damage in soybean seeds as affected by initial moisture content, cultivar and production location. **Seed Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 399-408, 2010. <https://doi.org/10.15258/sst.2010.38.2.13>

TUNES, C. D. *et al.* Alternative substrates for the germination test with treated soybean seeds. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 93210-93224, 2021. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n9-470>

XAVIER, F. M. *et al.* Adequação do teste de germinação para sementes de arroz tratadas com diferentes fungicidas e inseticidas. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 19193-19212, 2021. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n2-526>

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1 - USO DE VERMICULITA NO TESTE DE ROLO DE PAPEL PARA GERMINAÇÃO DE SEMENTES TRATADAS DE SOJA E SUAS IMPLICAÇÕES

*Artigo redigido conforme a norma NBR 6022, para publicação em periódico científico.

RESUMO

É comum a incidência de anormalidades em plântulas de soja tratadas com produtos fitossanitários, no teste de germinação em substrato de papel (RP), pelo efeito da maior concentração do produto químico por área. Assim, se faz necessário o ajuste de metodologias para que os resultados sejam representativos para essas sementes tratadas, sendo um destes ajustes o uso de vermiculita entre o rolo de papel (RP+V). Neste estudo, os objetivos foram avaliar as implicações do substrato RP+V sobre o processo de embebição das sementes e o efeito dos inseticidas neonicotinoides na germinação. O estudo foi dividido em dois ensaios. No primeiro ensaio, comparou-se o substrato convencional (RP) com o RP+V, para germinação de sementes tratadas e não tratadas quanto à embebição das sementes e comprimentos de raiz e de plântula. No segundo ensaio, foram comparadas sementes tratadas com inseticidas neonicotinoides e avaliadas em dois substratos de germinação, RP e RP +V. As avaliações foram a porcentagem de plântulas normais na primeira contagem aos 5 dias, e na germinação aos 7 dias, para RP+V e aos 8 dias para RP. A utilização do substrato RP+V promove aumento na velocidade de embebição de sementes de soja, e conseqüentemente maior desenvolvimento de plântulas e melhor expressão da germinação em relação ao RP. O tratamento de sementes com inseticidas neonicotinoides reduz a porcentagem de plântulas normais no teste de germinação, principalmente no substrato RP, com diferentes intensidades em função do ingrediente ativo. É possível realizar a contagem de germinação aos 7 dias com a utilização do substrato RP+V.

Palavras-chave: controle de qualidade; *Glycine max* L.; qualidade fisiológica; rolo de papel + vermiculita (RP + V); tratamento químico.

ABSTRACT

The incidence of abnormalities in soybean seedlings treated with phytosanitary products is common in the germination test on paper substrate (PR), due to the effect of the higher concentration of the chemical per area. It is therefore necessary to adjust methodologies so that the results are representative for these treated seeds, one of these adjustments being the use of vermiculite between the paper roll (PR+V). In this study, the objectives were to evaluate the implications of the PR +V substrate on the seed soaking process and the effect of neonicotinoid insecticides on germination. The study was divided into two trials. In the first trial, the conventional substrate (PR) was compared with PR +V for germination of treated and untreated seeds in terms of seed soaking and root and seedling lengths. In the second trial, seeds treated with neonicotinoid insecticides were compared and evaluated in two germination substrates, PR and PR +V. The assessments were the percentage of normal seedlings in the first count at 5 days, and germination at 7 days for PR +V and 8 days for PR. The use of the PR +V substrate promotes an increase in the soaking speed of soybean seeds, and consequently greater seedling development and better germination than PR. Seed treatment with neonicotinoid insecticides reduces the percentage of normal seedlings in the germination test, especially in the PR substrate, with different intensities depending on the active ingredient. It is possible to count germination at 7 days using the PR +V substrate.

Keywords: chemical treatment; *Glycine max L.*; paper roll + vermiculite (PR+V); physiological quality; quality control.

1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) destaca-se como uma das principais commodities produzidas e comercializadas no mundo, e o agronegócio brasileiro é responsável por grande parte da produção mundial de soja, pois atualmente o Brasil é o maior produtor e exportador do mundo (CONAB, 2024)

A utilização de sementes de alta qualidade está relacionada a este sucesso, pois é um fator crucial para alcançar altas produtividades de grãos (Bigolin *et al.*, 2022; Reis *et al.*, 2022). O uso de tecnologias que garantem a expressão da germinação das sementes em campo é essencial para maximizar a produtividade das culturas, sendo destaque o tratamento químico de sementes.

O mercado de tratamento químico de sementes de soja está crescendo consideravelmente devido ao reconhecimento do valor destas sementes e à importância de proteger seu desempenho e garantir o estande adequado de plantas, um dos pilares para elevadas produtividades.

O principal objetivo do tratamento químico é proteger as sementes usando produtos fitossanitários, visando melhorar o desenvolvimento inicial, tanto do ponto de vista fisiológico quanto econômico (Medeiros *et al.*, 2023). No entanto, alguns produtos usados podem causar fitotoxidez durante testes de verificação da qualidade fisiológica, dependendo do substrato utilizado, como exemplo a germinação em rolo de papel (Carvalho *et al.*, 2020; Rocha *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2023).

Esse efeito adverso é particularmente notável quando se faz uso de inseticidas neonicotinoides, como observado por Carvalho *et al.* (2022) e Santos *et al.* (2023). Entretanto, esses efeitos podem ser mais acentuados ou de menor incidência em função do tipo de teste fisiológico utilizado. Rocha *et al.* (2020) afirmaram que no teste de germinação rolo de papel a avaliação das plântulas foi afetada pelos tratamentos com moléculas inseticidas, pois conferiram maior fitotoxidez, o que prejudicou a germinação.

Os neonicotinoides representam uma classe de moléculas inseticidas amplamente empregadas na prática agrícola, especialmente desde a adoção generalizada de culturas transgênicas resistentes a lagartas. Este avanço tecnológico gerou um aumento na incidência de pragas sugadoras, resultando na necessidade de agentes eficazes de controle, entre os quais os

neonicotinoides se destacam como uma opção altamente eficiente, especialmente durante as fases iniciais do ciclo de cultivo por sua capacidade de ação sistêmica (Blacquiere *et al.*, 2012).

A germinação do lote de sementes é avaliada pelo teste de germinação, este é exigido para comercialização dos lotes de sementes de soja, com padrões mínimos a serem atendidos (Brasil, 2013). No Brasil os dois tipos de substratos recomendados para esse teste preconizados para análises oficiais no Brasil para sementes de soja são rolo de papel (RP) e entre areia (EA) (Brasil, 2009).

O teste de germinação permite avaliar a capacidade das sementes de desenvolver plântulas saudáveis em condições que se aproximam do ideal, incluindo controle preciso da temperatura, ausência de restrições de água e um ambiente de crescimento livre de pragas e patógenos (Brasil, 2009). A escolha da metodologia para semeadura e substrato do teste é importante, pois influencia diretamente na germinação em função de sua capacidade de retenção de água, estrutura e aeração, pois afeta o fornecimento de água e de oxigênio para as sementes e oferece suporte físico para o desenvolvimento da plântula (Mondo *et al.*, 2008).

No entanto, é comum nos laboratórios de controle de qualidade de sementes que a porcentagem de germinação das sementes tratadas com produtos fitossanitários seja menor do que a real qualidade fisiológica observada em condições de cultivo em campo. Por isso, pesquisadores têm avaliado avanços nas metodologias atuais de germinação, como o uso de vermiculita como substrato do teste (Rocha *et al.*, 2020; Tunes *et al.*, 2021). O uso de vermiculita tem se mostrado eficaz na presença de produtos fitossanitários no teste de germinação, pela diminuição dos efeitos adversos de fitotoxidez em plântulas oriundas de sementes tratadas (Rocha *et al.*, 2020).

Os resultados que indicam a possível mitigação dos efeitos fitotóxicos podem estar associados à capacidade da vermiculita em reduzir a taxa de embebição das sementes, conforme Han, Sung e Hsueh (2023). Ao restringir a absorção de água, de maneira análoga ao que ocorre no campo, a vermiculita desempenha um papel na atenuação dos potenciais impactos fitotóxicos causados por elevadas concentrações de produtos fitossanitários durante o desenvolvimento das plântulas (Rocha *et al.*, 2023). Contudo, ressalta-se que tais suposições e hipóteses requerem uma investigação mais aprofundada por meio de estudos específicos.

Dado o amplo uso de sementes de soja tratadas com produtos fitossanitários, é crucial conduzir pesquisas que orientem ajustes e proponham novos procedimentos adequados para

avaliá-los de forma segura, precisa e representativa. Isso permite uma correlação mais elevada com o potencial de germinação da semente em condições de produção no campo.

Considerando a elevada adoção do tratamento fitossanitário de sementes no escopo atual de produção de soja e que grande parte das análises das sementes de soja podem ocorrer com sementes tratadas, principalmente com uso da tecnologia de tratamento industrial de sementes (Reis *et al.*, 2023), o objetivo no trabalho foi avaliar as implicações da metodologia com o substrato RP+V sobre o processo de embebição das sementes e os efeitos dos inseticidas neonicotinoides na germinação de sementes de soja em relação ao substrato RP.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local

O experimento foi conduzido no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes e o tratamento de sementes foi realizado na Unidade de Beneficiamento de Sementes (UBS) localizado no Departamento de Agricultura (DAG), Escola de Ciências Agrárias de Lavras (ESAL) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brasil.

2.2 Delineamento experimental

Este estudo foi dividido em dois ensaios distintos:

No ensaio 1, foi utilizado o delineamento estatístico inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos, quatro repetições, sendo que em cada repetição foram utilizadas 50 sementes.

No ensaio 2, foi aplicado o DIC em um esquema fatorial 4 x 2, envolvendo quatro tratamentos de sementes e dois substratos de germinação, com quatro repetições de 50 sementes cada. Esse ensaio foi conduzido com três cultivares analisadas separadamente.

2.3 Ensaio 1:

A cultivar de soja utilizada foi a NS 8080 IPRO, cujas sementes apresentavam 12,57% de umidade. Para a condução desse ensaio, optou-se pela formação de quatro tratamentos, combinando tratamento químico e substrato do teste de germinação:

- Sementes tratadas semeadas em rolo de papel (RP - Tratada).
- Sementes não tratadas semeadas em rolo de papel (RP - Branca).
- Sementes tratadas semeadas em rolo de papel + vermiculita (RP+V - Tratada).
- Sementes não tratadas semeadas em rolo de papel + vermiculita (RP+V - Branca).

2.3.1 Tratamento de sementes

As sementes foram inicialmente pesadas e divididas em porções de 500 gramas para o subsequente processo de tratamento. O tratamento foi realizado utilizando a máquina Momesso Arktos Laboratório L2K BM, com calibração de 15 hertz no inversor do equipamento e aplicação seguida de homogeneização por 20 segundos, a fim de simular o processo industrial em lotes. Todas as sementes foram tratadas com a receita Fortenza Duo®, que inclui fungicidas e inseticidas conforme especificados na Tabela 1. Além disso, foi adicionado um polímero (Biocroma vermelho Biogrow®, na proporção de 100 mL 100 kg⁻¹ de sementes).

Tabela 1 – Ingredientes ativos (i.a.) e produtos comerciais utilizados no tratamento químico de sementes de soja.

i.a.	Concentração i.a.	Produto comercial	Tipo ¹	Dose do produto comercial ²
Tiametoxam	350g L ⁻¹	Cruiser 350 FS®	I	200 mL
Ciantraniliprole	600g L ⁻¹	Fortenza 600 FS®	I	60 mL
Metalaxil-M	20g L ⁻¹			
Tiabendazol	150g L ⁻¹	Maxim Advanced®	F	100 mL
Fludioxonil	25g L ⁻¹			

¹ Tipo: I: inseticida; F: fungicida

² Dose: mL 100 kg⁻¹ de sementes

Fonte: Do autor (2024).

Após o tratamento, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel Kraft multifoliado, para então serem submetidos às avaliações após 3 dias para sua estabilização. Os

substratos de germinação avaliados foram rolo de papel (RP) e rolo de papel + vermiculita (RP+V), conforme procedimentos:

Germinação em rolo de papel (RP): as sementes foram semeadas em duas folhas e coberta por uma folha de papel “germitest”, umedecidos com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato. Os rolos foram mantidos em germinador tipo mangelsdorf regulado à temperatura de $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ (Brasil, 2009). As avaliações foram realizadas de acordo com os itens 2.3.2 e 2.3.3.

Germinação em rolo de papel + vermiculita (RP+V): sobre o papel (duas folhas) já umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 3,0 vezes o peso do papel, uma camada fina e uniforme de vermiculita (de granulometria fina - 65 a 95% das partículas > 1,2 mm ou média - 55 a 95% das partículas > 2,4 mm) umedecida (proporção de 1 g de vermiculita:1 mL de água) foi adicionada e distribuída na quantidade de 100 mL por repetição. A seguir, as 50 sementes de cada repetição foram distribuídas com o auxílio de uma placa contadora de sementes, e posterior cobertura do conjunto com outra folha de papel umedecido e então feitos os rolos como normalmente realizado em testes em substrato RP. Em seguida, foram mantidas em germinador tipo mangelsdorf a $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. As avaliações foram realizadas de acordo com os itens 2.3.2 e 2.3.3.

2.3.2 Curva de embebição

Para determinar o padrão de absorção de água pelas sementes, realizou-se a construção de uma curva de embebição. As repetições de 50 sementes foram submetidas a pesagens periódicas utilizando uma balança de alta precisão (0,0001g) seguindo um cronograma específico: a cada hora nas primeiras 16 horas, a cada 3 horas até completar 31 horas, a cada 6 horas até atingir 55 horas, e uma última pesagem após 24 horas, completando assim 79 horas de embebição.

O momento da protrusão radicular foi registrado, indicando o ponto em que mais de 50% das sementes apresentaram essa ocorrência. Para a construção do gráfico representativo da curva, o peso total de cada tratamento foi dividido pelo número de sementes presentes em cada repetição, e após a protrusão radicular foi dividido pelo número de sementes germinadas em cada leitura.

2.3.3 Desenvolvimento de plântulas após a curva de embebição

Após a conclusão da curva de embebição, foram amostradas aleatoriamente 20 plântulas de cada repetição para realização da captura de imagens. As avaliações foram conduzidas utilizando o GroundEye®, na versão S120. As plântulas foram posicionadas em uma bandeja no módulo de captação para obtenção de imagens de alta resolução. Posteriormente, para a calibração da cor de fundo, empregou-se o modelo de cor CIELab, com índice de luminosidade variando de 0 a 100, dimensão “a” no intervalo de -13,9 a 46,1 e dimensão “b” de -57,1 a -40,6. Após a calibração da cor do fundo, a análise das imagens foi conduzida de forma automatizada, através da extração dos valores médios dos seguintes parâmetros: tamanho da raiz primária e tamanho total das plântulas.

2.3.4 Análise estatística

Os dados foram submetidos a uma análise de variância a um nível de significância de 5% utilizando o teste F. Quando as diferenças foram consideradas significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a %5 significância. Todas as análises foram realizadas utilizando o software RStudio, com o auxílio do pacote ExpDes.pt (R Development Core Team, 2022; Ferreira, Cavalcanti, Nogueira, 2021).

2.4 Ensaio 2:

Foram utilizadas as cultivares NS 8080 IPRO, Monsoy 6410 IPRO e Brasmax Zeus IPRO, com umidade média de 12,03%, 12,45% e 11,76% respectivamente. Todas as cultivares foram produzidas em regiões diferentes e apresentavam qualidade fisiológica distintas.

2.4.1 Tratamento de sementes

As sementes foram inicialmente pesadas e separadas em porções de um quilograma para o subsequente tratamento. O processo de tratamento foi realizado utilizando a máquina Momesso Arktos Laboratório L2K BM, com um ajuste de calibração de 15 hertz no inversor do equipamento e aplicação seguida de homogeneização por 20 segundos, a fim de simular o

tratamento industrial em bateladas. Todos os tratamentos receberam uma calda padrão que incluía o fungicida Maxim Advanced® e Biocroma vermelho Biogrow® (Tabela 2), além de diferentes inseticidas (Tabela 3).

Tabela 2 – Composição da calda padrão utilizada no tratamento das sementes.

Produto comercial	i.a.	Classe	Dose*
	Tiabendazol (150g L ⁻¹)	Fungicida	
Maxim Advanced®	Fludioxonil (25g L ⁻¹)	Fungicida	100 mL
	Matalaxil-M (20g L ⁻¹)	Fungicida	
Biocroma vermelho Biogrow®	-	Polímero	100 mL

*Recomendação para 100 kg sementes.

Fonte: Do autor (2024).

Tabela 3 - Tratamentos de sementes com inseticidas.

Tratamento de sementes	Produto comercial	i.a.	Dose* (mL)	Volume final de calda** (mL)
Controle	-	-	-	200
Tiam+ Cian	Cruiser 350® FS + Fortenza 600® FS	Tiametoxam (350g L ⁻¹) + Ciantraniliprole (600g L ⁻¹)	200 + 60	460
Clot + Fip	Poncho® + Shelter®	Clotianidina (600g L ⁻¹) + Fipronil (250g L ⁻¹)	100 + 200	500
Imida + Tiod	Cropstar®	Tiodicarbe (450g L ⁻¹) + Imidacloprido (150g L ⁻¹)	500	700

*Recomendação para 100 kg sementes.

**Valor final incluindo a calda base com fungicida e polímero.

Fonte: Do autor (2024).

Após o tratamento, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel Kraft multifoliado, para então serem submetidos às avaliações após 3 dias para sua estabilização.

2.4.2 Avaliações

As metodologias avaliadas foram com os substratos RP e RP+V, com os seguintes procedimentos:

Germinação em rolo de papel (RP): o procedimento foi o mesmo anteriormente descrito. As avaliações foram realizadas cinco e oito dias após a semeadura, considerando o percentual de plântulas normais (Brasil, 2009).

Germinação em rolo de papel entre vermiculita (RP+V): o procedimento também foi o mesmo anteriormente descrito. No entanto, as avaliações foram realizadas cinco e sete dias após a semeadura, considerando o percentual de plântulas normais.

2.4.3 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância a um nível de significância de 5% utilizando o teste F. Quando as diferenças foram significativas, as médias foram comparadas com uso do teste de Tukey a %5 significância. Todas as análises foram realizadas utilizando o software RStudio, com o auxílio do pacote ExpDes.pt (R Development Core Team, 2022; Ferreira, Cavalcanti, Nogueira, 2021).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ensaio 1

A curva de embebição de sementes de soja (Figura 1) apresentou padrão trifásico, próximo ao descrito por Bewley *et al.* (2013), porém com discrepâncias em relação à protrusão radicular. Com uma fase I de rápida absorção de água, seguida de uma fase II de absorção reduzida e uma fase III de retomada do crescimento do eixo embrionário.

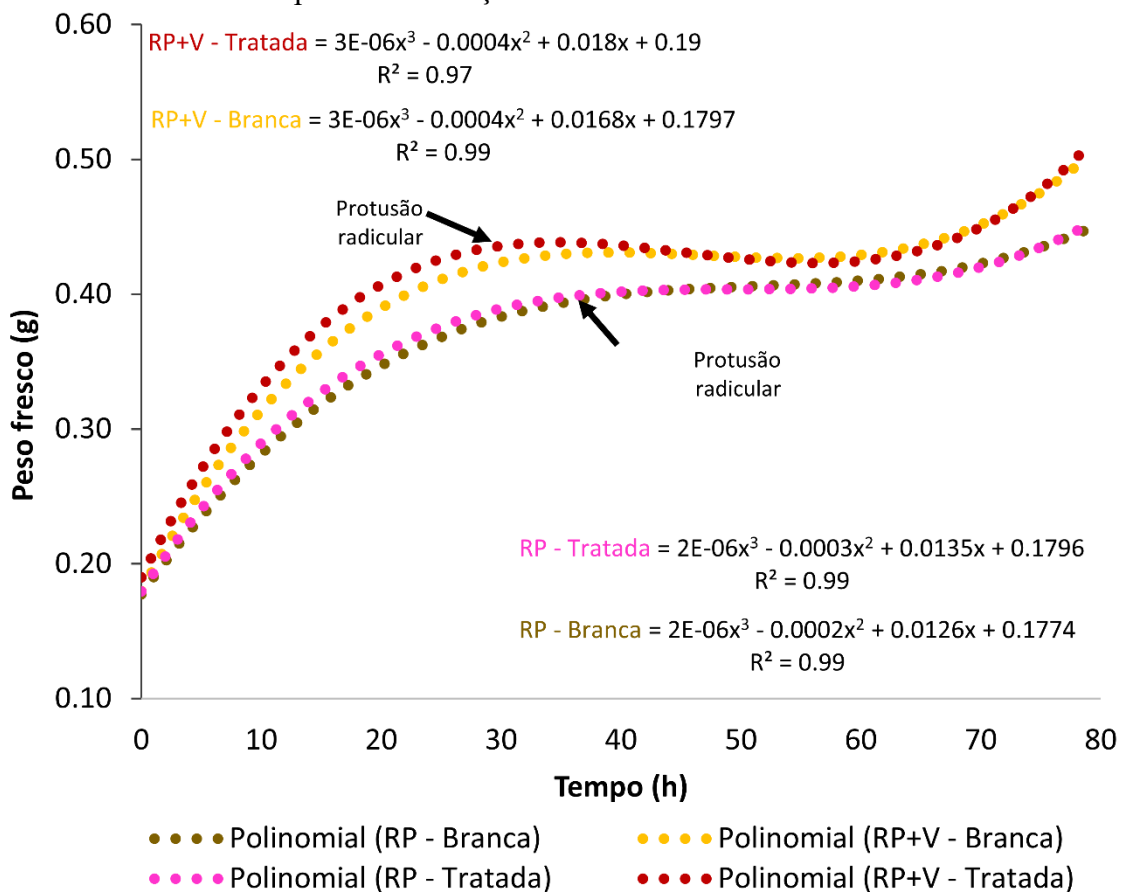
A fase I ocorre devido à diferença de potencial hídrico entre a semente e o substrato, no presente trabalho essa fase ocorreu nas primeiras 20 horas, com maiores valores observados para o substrato RP+V, quase dobrando o peso fresco das sementes, sem diferenças marcantes entre o uso ou não do tratamento químico (Figura 1).

Na fase II, quando ocorre a degradação de substâncias de reserva para gerar energia para a retomada do crescimento do eixo embrionário, no modelo gerado essa fase foi curta, durando cerca de 11 horas para os tratamentos com o substrato RP+V, pois as protrusões radiculares ocorreram com 31 horas de embebição para a metodologia RP+V e após 37 horas para a metodologia RP (Figura 1).

Na fase III, marcada pela protrusão da radícula (Bewley *et al.*, 2013), no presente trabalho iniciou-se com 31 horas para RP+V e 37 horas para RP, e após esse período foi constatada tendência de estabilidade de valores até aproximadamente 55 horas, com posterior intenso aumento no peso fresco das sementes.

Outros autores também encontraram esta rápida embebição de sementes de soja nas primeiras horas (Ma *et al.*, 2004; Rajendran *et al.*, 2019; Abati *et al.*, 2022), podendo chegar ao incremento de até 130% do seu peso em até 10 horas de embebição (Rajendran *et al.*, 2019).

Figura 1 – Peso fresco das sementes (g), tratadas ou não com produtos fitossanitários, após diferentes tempos de embebição em substrato RP e RP+V.



Fonte: Do autor (2024).

As tendências das curvas de embebição de todos os tratamentos foram semelhantes, porém independente dos tratamentos ou não com os produtos fitossanitários, sementes da metodologia RP+V apresentaram maior velocidade de embebição e, conseqüentemente, protrusão radicular mais rápida (Figura 1). Estes resultados indicam que o substrato afetou o processo inicial de embebição e conseqüentemente de protrusão da raiz primária.

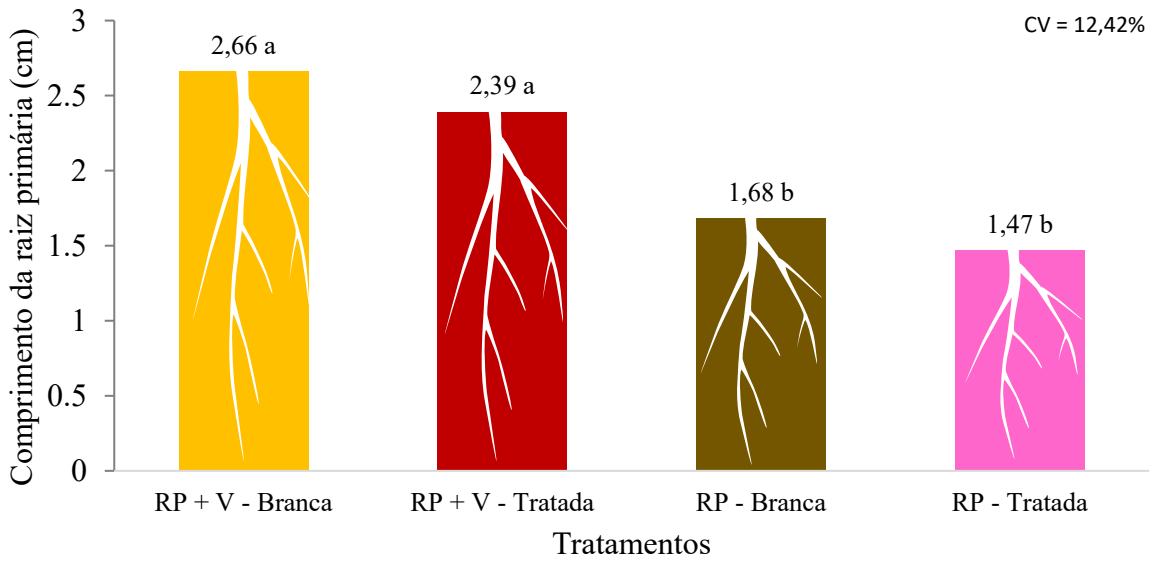
Para Han, Sung e Hsueh (2023) que estudaram diferentes metodologias de embebição para a germinação de sementes de feijão alado (*Psophocarpus tetragonolobus*), o uso de uma mistura contendo vermiculita foi a metodologia mais eficaz, pois as sementes tiveram uma lenta embebição, em relação à germinação com o substrato *noguchi* e imersão em água, e não apresentaram lesões, conforme observado por microscopia eletrônica. Tais resultados são discrepantes em relação aos observados neste estudo, onde o uso de vermiculita aumentou a velocidade de embebição das sementes, quando comparado ao teste RP.

Este fato leva a inferir que a causa da menor ocorrência de fitotoxidez em sementes e plântulas com tratamento fitossanitário na metodologia RP+V esteja relacionado, não à embebição lenta, mas à maior área de contato entre a semente e o substrato e a maior quantidade de substrato no teste que auxilia na diluição do produto químico, o que torna as condições mais próximas das condições em campo, onde o solo faria essa função. Porém, para tal afirmação trabalhos específicos nessa linha devem ser desenvolvidos.

A adição de vermiculita como componente ao papel germitest aumenta potencialmente a adsorção, criando um sistema de dois substratos que pode diluir o contato i.a. com a semente. Isso ocorre devido à capacidade de absorção e diluição conjunta desses substratos. Além disso, o aumento do volume de substrato com a adição da vermiculita aumenta a área de contato entre semente e substrato, por isso a recomendação do uso de granulometrias média e fina visa intensificar ainda mais essa interação.

O uso de sementes tratadas com os produtos fitossanitários não influenciou o tamanho da raiz primária (Figura 2) e nem no comprimento total de plântulas (Figura 3) após 79 horas. No entanto, a metodologia RP+V proporcionou crescimento maior para ambas as características, com um aumento médio de 1 cm no comprimento da raiz primária e de 1,6 cm no comprimento total da plântula. Para sementes de algodão, a utilização de vermiculita no teste de germinação também proporcionou rápida germinação e desenvolvimento uniforme de plântulas (Cossa *et al.*, 2023).

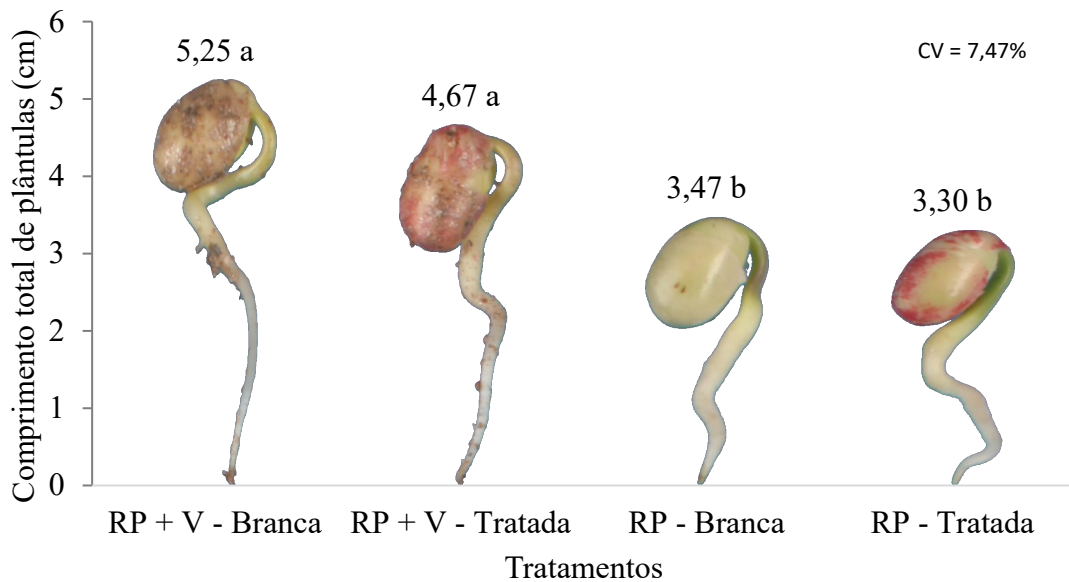
Figura 2 – Comprimento de raiz primária de plântulas de soja (cm), tratadas ou não com produtos fitossanitários, após 79 horas de embebição em substrato RP e RP+V.



*Médias seguidas de mesma letra entre tratamentos não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Do autor (2024).

Figura 3 – Comprimento total de plântulas de soja (cm), tratadas ou não com produtos fitossanitários, após 79 horas de embebição em substrato RP e RP+V.



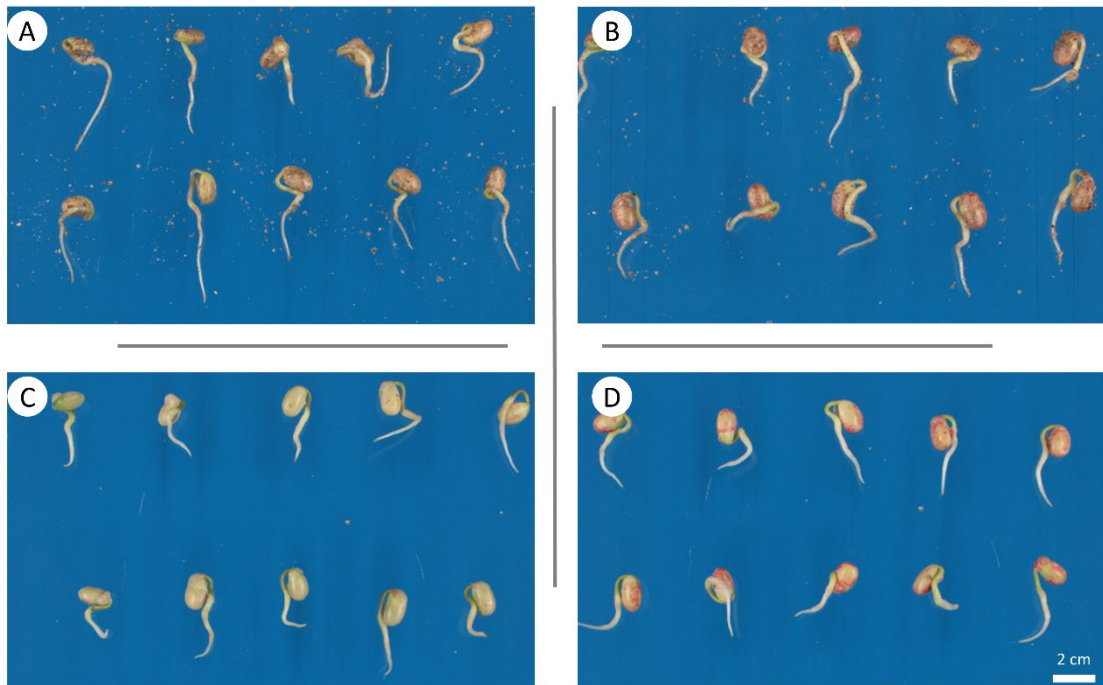
*Médias seguidas de mesma letra entre tratamentos não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Do autor (2024).

Substratos que favoreçam o desenvolvimento mais rápido podem ser vantajosos, pois podem antecipar as avaliações das plântulas e também amenizando possíveis erros de interpretação dos resultados.

Foi observada uma maior taxa de embebição proporcionada pela metodologia RP+V, o que acelera o processo de germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas, conforme evidenciado na Figura 4. Além disso, o uso de vermiculita apresenta outros benefícios, uma vez de não haver necessidade de umedecimento do substrato e proporcionar desempenho germinativo superior das sementes (Rossetti *et al.*, 2022).

Figura 4 - Plântulas de soja obtidas em 79 horas após a semeadura de sementes tratadas e não tratadas nos diferentes substratos. A) RP+V – Branca. B) RP+V – Tratada. C) RP – Branca. D) RP – Tratada.



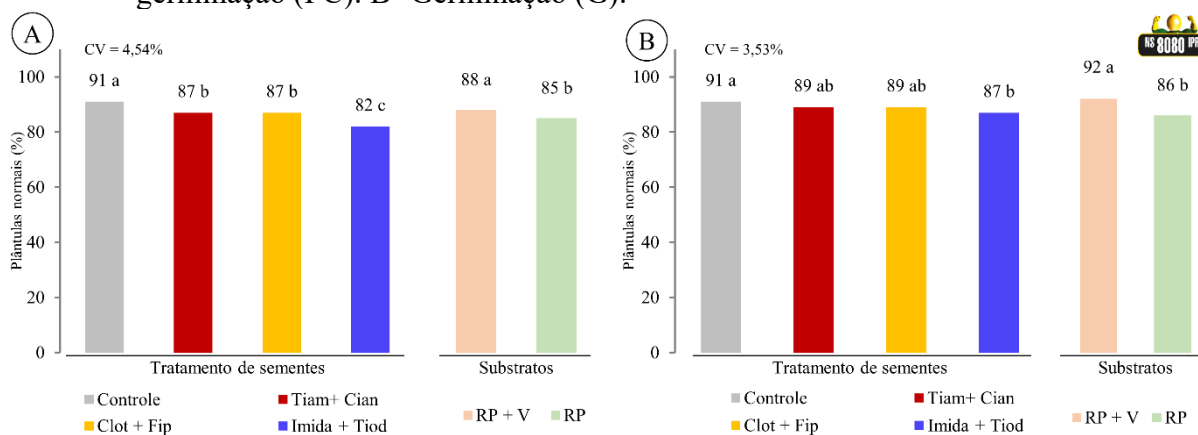
Fonte: Do autor (2024).

3.2 Ensaio 2

Houve diferença na porcentagem de plântulas normais entre os tratamentos de sementes utilizados e o substrato de germinação empregada, tanto na primeira contagem (PC) quanto na germinação (G), para todas as cultivares.

Para sementes da cultivar NS 8080, o tratamento de sementes com neonicotinoides foi prejudicial à porcentagem de plântulas normais, tanto na PC (Figura 5A) quanto na G (Figura 5B).

Figura 5 - Porcentagem de plântulas normais entre diferentes tratamentos de sementes e substratos, sementes da cultivar NS 8080 IPRO. A - Primeira contagem de germinação (PC). B- Germinação (G).



*Médias seguidas de mesma letra, dentro de tratamentos de sementes e de substratos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Do autor (2024).

O uso de Imida + Tiod reduziu a porcentagem de plântulas normais em 9 pontos percentuais (p.p.) na PC e 4 p.p. na G, em comparação ao controle. Essa redução pode ser atribuída à maior concentração do i.a. ao entorno das sementes, associada à dose maior do produto comercial recomendado pelo fabricante. Para a PC, o uso desses i.a. proporcionou menor valor de plântulas normais, seguido de Clot + Fip e Tim + Cian, que não diferiram entre si, e maior valor para o controle, somente com fungicida (Figura 5A).

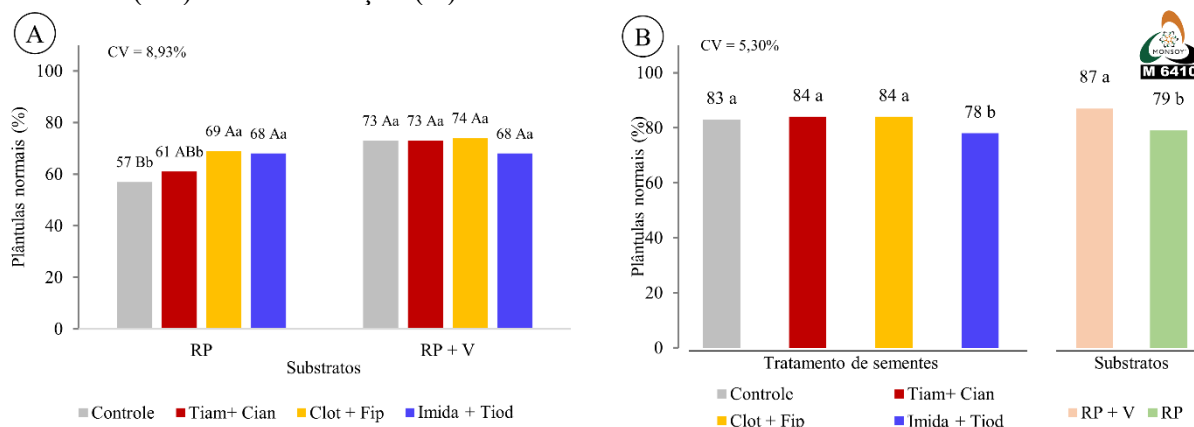
Para germinação, sementes tratadas com Imida + Tiod apresentaram menor valor em relação ao controle, com os demais tratamentos inseticidas com resultados intermediários (Figura 5B), independente do substrato utilizado.

A metodologia com o substrato RP+V promoveu maior porcentagem de plântulas normais do que o substrato RP, tanto na PC (Figura 5A) quanto na G (Figura 5B). O aumento foi de 3 p.p. na PC e 6 p.p. na G. Essas diferenças foram significativas, reforçando a influência do substrato sobre a avaliação da germinação.

Para sementes da cultivar M6410, com uso do substrato RP a menor porcentagem de plântulas normais foi observada em sementes tratadas somente com fungicida, 57%, resultado contraditório em relação ao observado para as demais cultivares. Já com o substrato RP+V não

houve diferença entre os tratamentos de sementes, com valores absolutos mais elevados em relação aos observados em RP (Figura 6A).

Figura 6 - Porcentagem de plântulas normais entre diferentes tratamentos de sementes e substratos, da cultivar Monsoy 6410 IPRO. A - Primeira contagem de germinação (PC). B- Germinação (G).



*A - Médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando tratamentos de sementes dentro do substrato e minúscula comparando substratos dentro dos tratamentos de sementes, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. B - Médias seguidas de mesma letra, dentro de tratamentos de sementes e de substratos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

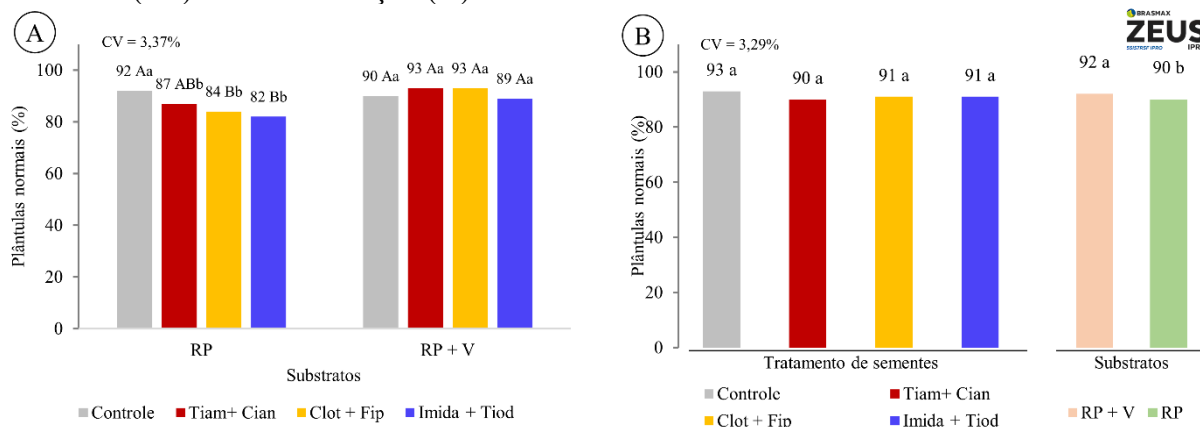
Fonte: Do autor (2024).

Para a porcentagem de plântulas normais na G (Figura 6B), observou-se tendência semelhante a cultivar NS8080, com menor valor para sementes tratadas com Imida + Tiod, redução de 5 p.p. em relação ao controle, e que entre os substratos, a utilização do RP+V favoreceu a expressão da germinação em 8 p.p. em relação à RP. Essa diferença é significativa, pois com metodologia RP o valor ficaria abaixo do permitido para comercialização de sementes de soja, 80% (Brasil, 2013), levando à reprovação do mesmo, fato que não ocorreria com o substrato RP+V, em que o valor médio foi de 87%.

Para sementes da cultivar Zeus, o tratamento de sementes com os neonicotinoides foi prejudicial à porcentagem de plântulas normais na PC apenas com uso do RP, com os menores valores observados com os tratamentos Clot + Fip e Imida + Tiod (Figura 7A), levando a inferir sobre maior fitotoxidez nessa metodologia. O uso de Imida + Tiod reduziu a porcentagem de plântulas normais em 10 p.p. em relação ao controle, e Clot + Fip em 8 p.p., quando utilizado o substrato RP. Na metodologia com substrato RP+V não houve diferença entre controle e sementes tratadas com inseticidas, as sementes tratadas com inseticidas apresentaram maiores valores em primeira contagem de germinação em RP+V do que em RP (Figura 7A).

Para a G, os tratamentos de sementes não diferiram estatisticamente entre si. Entretanto, independente do tratamento, sementes em RP+V expressaram maior germinação do que em RP (Figura 7B).

Figura 7 - Porcentagem de plântulas normais entre diferentes tratamentos de sementes e substratos, da cultivar Brasmax Zeus IPRO. A - Primeira contagem de germinação (PC). B – Germinação (G).



*A - Médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando tratamentos de sementes dentro do substrato e minúscula comparando substratos dentro do tratamentos de sementes, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. B - Médias seguidas de mesma letra, dentro de tratamentos de sementes e de substratos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Do autor (2024).

É sabido que o tratamento de sementes de soja com inseticidas neonicotinoides pode causar fitotoxidez no teste de germinação, principalmente quando ocorre armazenamento prolongado após o tratamento (Carvalho *et al.*, 2020; Rocha *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2023). Esse resultado pode estar relacionado ao tipo de substrato utilizado no teste, papel germitest, que pode aumentar a fitotoxidez de alguns ingredientes ativos, somado a sensibilidade dos cultivares (Decarli *et al.*, 2019; Carvalho *et al.*, 2020; Rocha *et al.*, 2020; Carvalho *et al.*, 2022).

Os i.a. Imida + Tiod foram os mais agressivos sobre a germinação das sementes, principalmente na metodologia RP. Tunes *et al.* (2020) observaram que houve efeitos negativos de produtos contendo imidacloprido em sementes de soja, principalmente no substrato papel. Para Rocha *et al.* (2020), os tratamentos com moléculas inseticidas afetaram a germinação e avaliação das plântulas, principalmente em testes com água abundante e livre.

Isso pode estar relacionado à fitotoxidez das moléculas, sobretudo do neonicotinóide imidacloprido, associado à dose elevada em bula ocasionando um volume de calda final elevado, geralmente superando 750 mL 100 kg⁻¹ de sementes quando realizado com algum fungicida. O tratamento de sementes com volume de calda elevado, acima de 700 mL 100 kg⁻¹

de sementes, é prejudicial para a manutenção do vigor das sementes, principalmente com predominância aquosa da calda (Santos *et al.*, 2018). Para Abati *et al.* (2020), o potencial fisiológico de sementes de soja é reduzido com o volume de calda superior a 600 mL 100 kg⁻¹ de sementes, se intensificando durante o armazenamento.

A metodologia com o substrato RP+V no teste de germinação apresentou diversos benefícios, principalmente para sementes tratadas com inseticidas. Dentre eles, destacam-se: maior velocidade de embebição, crescimento e desenvolvimento das plântulas, aumento da área de contato semente/substrato além de maior volume de substrato que pode amenizar problemas com fitotoxidez por produtos fitossanitários. Ressalta-se ainda a possibilidade de antecipação de dias na contagem de final de germinação para 7 dias, sem perda de eficiência, o que facilita a utilização da metodologia com este substrato em laboratórios de análise de sementes de forma rotineira, pois possibilita a montagem e avaliação do teste em todos os dias úteis da semana.

A vermiculita expandida é adsorvente, o que explica a redução da fitotoxicidade de alguns i.a. do tratamento de sementes. Isso se deve à sua forte afinidade com moléculas catiônicas, principalmente, bem como à sua capacidade de adsorver moléculas de vários tamanhos (Brião, Silva, Vieira, 2021), tornando-a capaz de remover contaminantes da água (Kredatusová, Brožek, 2012). Assim, devido à sua capilaridade, os espaços vazios conectados por poros da vermiculita funcionam como vias de absorção durante o teste de germinação, permitindo a absorção de produtos fitossanitários (Cuong, Hue, Kim, 2019), de forma mais similar ao que ocorre em solo nos campos de produção.

Além dos benefícios já mencionados, a metodologia RP+V também é indicada por alguns autores como uma alternativa para sementes de soja tratadas (Rocha *et al.*, 2020; Tunes *et al.*, 2021). Essa metodologia também apresentou resultados de plântulas normais germinação superiores ou iguais às metodologias preconizada pela RAS (Brasil, 2009; Rocha *et al.*, 2020; Tunes *et al.*, 2021).

O uso da metodologia RP+V também é viável para outras culturas. Xavier *et al.* (2021a, 2021b) observaram que a adição de vermiculita entre papel é viável para sementes de arroz tratadas quimicamente, tanto para sementes de alta quanto de baixa qualidade. Rossetti *et al.* (2022), Alvarenga *et al.* (2020) e Cossa *et al.* (2023) também encontraram esses resultados, utilizando feijão comum, milho e algodão, respectivamente.

4 CONCLUSÕES

A utilização da metodologia com o substrato RP+V promove aumento na velocidade de embebição de sementes de soja e de protrusão radicular, e conseqüentemente maior desenvolvimento das plântulas em relação à RP.

O potencial máximo de germinação dos lotes estudados se deram com a metodologia com o substrato RP+V, independente do tratamento fitossanitário e cultivar.

O tratamento de sementes com inseticidas neonicotinoides reduz a porcentagem de plântulas normais no teste de germinação, principalmente na metodologia RP, com diferentes intensidades em função do ingrediente ativo.

É possível antecipar a avaliação de germinação para os 7 dias com a utilização da metodologia com o substrato RP+V.

REFERÊNCIAS

- ABATI, J. *et al.* Physiological response of soybean seeds to spray volumes of industrial chemical treatment and storage in different environments. **Journal of Seed Science**, v.42, p. e202042002, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42221062>
- ABATI, J. *et al.* Water absorption and storage tolerance of soybean seeds with contrasting seed coat characteristics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 44, 2022. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v44i1.53096>
- ALVERENGA, G. *et al.* Sementes de milho tratada: substratos e metodologia alternativa para o teste de germinação. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 41190-41210, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n6-600>
- BEWLEY, J. D. *et al.* **Germination. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**, 3 ed., p. 133-181, 2013. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4>
- BIGOLIN, G. *et al.* Influência do vigor de sementes no rendimento e qualidade fisiológica de sementes de soja. **Enciclopédia Biosfera**, v. 19, n. 40, 2022. <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2022b/influencia.pdf>
- BLACQUIERE, T. *et al.* Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, p. 973-992, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0863-x>
- BRANDAN, E. B. *et al.* Image analysis for the evaluation of soybean seeds vigor. **Acta Agronômica**, v. 70, n. 3, p. 311-316, 2021. <https://doi.org/10.15446/acag.v70n3.92093>
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa MAPA nº 45 de 17/09/2013**. Brasília: MAPA/GAB, 2013. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/copy_of_INN45de17desetembrede2013.pdf. Acesso em: 25 jan. 2024.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ ACS, 2009. 395p.
- BRIÃO, G. V.; SILVA, M. G. C.; VIEIRA, M. G. A. Efficient and selective adsorption of neodymium on expanded vermiculite. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 60, n. 13, p. 4962-4974, 2021. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.0c05979>
- CARVALHO, E. R. *et al.* Physiological and enzymatic monitoring of treated seeds of cultivars soybean during storage. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.17, n.3, p.e2077-e2077, 2022. <https://doi.org/10.5039/agraria.v17i3a2077>
- CARVALHO, E. R. *et al.* Phytotoxicity in soybean seeds treated with phytosanitary products at different application times. **Journal of Seed Science**, v. 42, p. e202042036, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42237847>

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. v.11, Safra 2023/2024, quarto levantamento, janeiro, 2024. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/safra-graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/51274_e40f1bba791d27a4c67a29c5f29781ff>. Acesso em: 25 jan. 2024.

COSSA, N. H. da S. *et al.* An alternative approach to conducting germination tests on chemically treated and untreated stored cotton seeds. **Journal of Seed Science**, v. 45, p. e202345027, 2023. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v45266896>

CUONG, N. D.; HUE, V. T.; KIM, Y. S. Thermally expanded vermiculite as a risk-free and general-purpose sorbent for hazardous chemical spillages. **Clay Minerals**, v. 54, n. 3, p. 235-243, 2019. <https://doi.org/10.1180/clm.2019.34>

DECARLI, L. *et al.* Tratamento industrial em sementes de soja: qualidade fisiológica e desempenho da cultura. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 14, n. 3, p. 1-7, 2019. <https://doi.org/10.5039/agraria.v14i3a6235>

FERREIRA E. B., CAVALCANTI P. P., NOGUEIRA D. A. **ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (português)**. R package version 1.2.2, 2021. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/ExpDes.pt/index.html>>. Acesso em: 25 jan. 2024.

HAN, C. T.; SUNG, Y.; HSUEH, M. T. Imbibition Treatments on the Germination of White Winged Bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) Seeds. **The Horticulture Journal**, v. 92, n. 2, p. 162-170, 2023. <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-387>

KREDATUSOVÁ, J.; BROŽEK, J. Preparation of clay mineral polymer nanocomposites by adsorption in solution. **Applied clay science**, v. 62, p. 94-100, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2012.04.009>

MA, F. *et al.* Cracks in the palisade cuticle of soybean seed coats correlate with their permeability to water. **Annals of Botany**, v. 94, n. 2, p. 213-228, 2004. <https://doi.org/10.1093/aob/mch133>

MEDEIROS, J. C. *et al.* Quality of corn seed industrial seed treatment (IST) and On-Farm treatment (OFT) in Brazilian agribusiness. **Journal of Seed Science**, v. 45, p. e202345017, 2023. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v45267344>

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, 2022. URL <https://www.R-project.org/>.

RAJENDRAN, A. *et al.* Seed traits as factors influencing pre-germination anaerobic stress tolerance in soybean. **Research Journal of Biotechnology**, v. 14, p. 6, 2019.

REIS, V. U. V. *et al.* Vigor of maize seeds and its effects on plant stand establishment, crop development and grain yield. **Journal of Seed Science**, v. 44, p. e202244020, 2022. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v44257527>

ROCHA, D. K. *et al.* Does the substrate affect the germination of soybean seeds treated with phytosanitary products?. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 44, p. e020119, 2020. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044020119>

ROCHA, D. K. *et al.* Validation of the paper roll plus vermiculite (PR+ V) germination test methodology for treated corn seeds. **Journal of Seed Science**, v. 45, p. e202345026, 2023. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v45274506>

ROSSETTI, C. *et al.* Germination test in carioca bean seeds chemically treated with the use of alternative substrates. In: **Colloquium Agrariae**. p. 29-34, 2022. <https://journal.unoeste.br/index.php/ca/article/view/4122>

SANTOS, R. F. *et al.* Physiological potential of soybean seeds treated and stored under uncontrolled conditions. **Journal of Seed Science**, v. 45, p. e202345005, 2023. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v45262942>

SILVA, N. D. **Substratos e metodologia alternativa para o teste de germinação em sementes de soja tratadas quimicamente**. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas. <http://guaiaca.ufpel.edu.br/handle/prefix/4543>

TUNES, C. D. *et al.* Alternative substrates for the germination test with treated soybean seeds. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 93210-93224, 2021. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n9-470>

TUNES, C. D. *et al.* Distinct levels of quality of treated soybean seeds evaluated in alternative substrates to the germination test. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 61623-61635, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-547>

XAVIER, F. M. *et al.* Adequação do teste de germinação para sementes de arroz tratadas com diferentes fungicidas e inseticidas. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 19193-19212, 2021a. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n2-526>

XAVIER, F. M. *et al.* Substratos alternativos para teste de germinação em sementes de arroz com distinta qualidade fisiológica e quimicamente tratadas. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 45000-45013, 2021b. <https://doi.org/10.34117/bjdv.v7i5.29353>

ARTIGO 2 - É NECESSÁRIO UTILIZAR O PRÉ-CONDICIONAMENTO COM A METODOLOGIA COM O SUBSTRATO ROLO DE PAPEL + VERMICULITA PARA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE SOJA?

*Artigo redigido conforme a norma NBR 6022, para publicação em periódico científico.

RESUMO

A combinação de sementes com baixa umidade e tratamento químico tem gerado algumas inconsistências nos resultados do teste de germinação em rolo de papel (RP). A técnica de pré-condicionamento das sementes, antes do teste de germinação, pode ser utilizada para amenizar danos por embebição em sementes mais secas. Já a metodologia de germinação com vermiculita em rolo de papel (RP+V) têm-se mostrado como uma alternativa para minimizar o efeito da alta concentração dos produtos químicos no rolo de germinação. O objetivo foi avaliar se a utilização do pré-condicionamento é necessária quando se faz uso da metodologia com o substrato RP+V, em função da umidade das sementes e do substrato utilizado no teste de germinação. Utilizou-se sementes de soja de um mesmo lote, que por secagem foram obtidas diferentes umidades e então tratadas ou não com produtos fitossanitários. O experimento foi realizado em fatorial 3x2x3, sendo três graus de umidade das sementes (12, 10 e 8%), dois tipos de pré-condicionamento, realização ou não, e três metodologias do teste de germinação: RP, RP+V e entre areia (EA). Os parâmetros avaliados foram porcentagem de plântulas normais e fortes na primeira contagem, e porcentagem de plântulas normais na germinação. O uso do pré-condicionamento aumenta a expressão da qualidade em lotes de sementes de soja com umidade entre 8% e 12%, sendo o efeito mais evidente para lotes com umidade inferior a 10%. Sem a utilização do pré-condicionamento, o substrato de RP+V favorece a expressão da qualidade do lote, consequência de menores efeitos dos danos de embebição nesse substrato. A metodologia de RP+V favorece o desenvolvimento inicial das plântulas, com maior porcentagem de plântulas fortes, o que facilita a avaliação do teste de germinação, amenizando assim possíveis subjetividades.

Palavras-chave: controle de qualidade; dano por embebição; *Glycine max L.*; qualidade fisiológica; umidade.

ABSTRACT

The combination of seeds with low humidity and chemical treatment has generated some inconsistencies in the results of the germination test on paper rolls (PR). The technique of preconditioning the seeds before the germination test can be used to reduce soaking damage in drier seeds. Germination with vermiculite on a paper roll (PR+V) has been shown to be an alternative to minimize the effect of the high concentration of chemical products on the germination roll. The aim was to assess whether the use of preconditioning is necessary when using the methodology with the PR+V substrate, depending on the humidity of the seeds and the substrate used in the germination test. Soybean seeds from the same batch were used, which were dried to different moistures and then treated or not with phytosanitary products. The experiment was carried out in a 3x2x3 factorial, with three moistures (12, 10 and 8%), two types of preconditioning, whether or not they were treated, and three germination test methodologies: PR, PR+V and between sand (BS). The parameters evaluated were the percentage of normal and strong seedlings in the first count and the percentage of normal seedlings in the final count. The use of preconditioning increases the expression of quality in batches of treated and untreated soybean seeds from batches with moisture between 12 and 8%, with the effect being more evident for batches with lower moisture, 10%. Without the use of preconditioning, the PR+V substrate favors the expression of batch quality. The RP+V methodology favors the initial development of the seedlings, with a higher percentage of strong seedlings, which facilitates the evaluation of the germination test, thus mitigating possible subjectivity.

Keywords: *Glycine max L.*; moisture.; physiological quality.; quality control.; soaking damage.

1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja é uma importante *commodity* no cenário agrícola mundial, sendo o Brasil considerado o maior produtor (CONAB, 2024). Elevadas produtividades e produções estão diretamente relacionadas ao uso de tecnologias e muitas dessas, veiculadas via sementes, sendo essencial a utilização de sementes de alta qualidade, pois produtividade e qualidade de sementes estão diretamente relacionadas (Bagatelli *et al.*, 2019; Reis *et al.*, 2022).

A aferição correta e representativa da qualidade fisiológica das sementes é uma preocupação atual da cadeia de produção de sementes de soja atualmente, pois muitas vezes o tipo de substrato ou mesmo o tempo de contagem podem afetar resultados, principalmente para sementes tratadas com produtos fitossanitários (Rocha *et al.*, 2020). Existem relatos de inconsistências de resultados entre germinação de sementes tratadas em substratos convencionais como rolo de papel (RP) e entre areia (EA), sobretudo com a metodologia RP, em relação ao observado no campo. Isso pode ocorrer em função de alguns fatores, dentre eles tipos de substratos, produtos fitossanitários, umidade do lote e sanidade das sementes e danos por embebição.

A umidade é uma qualidade física das sementes e está diretamente relacionada à longevidade e à viabilidade das sementes, sendo propriedades inversas (Mbofung *et al.*, 2013). Em baixas umidades (<11%), as sementes de soja são suscetíveis a danos de embebição causados pela rápida absorção de água (Toledo *et al.*, 2010). No teste de germinação, os sintomas do dano por embebição se dão nas plântulas, como a presença de anormalidades no sistema radicular, as raízes podem estar encurtadas ou ausentes, ou podem apresentar-se deformadas ou com coloração alterada (França Neto, Krzyzanowski, 2018).

Em geral, os danos de embebição no teste de germinação de sementes de soja utilizando o substrato RP, ocorrem com umidade abaixo de 11%, enquanto sementes com umidade acima de 15% não apresentam este dano (Toledo *et al.*, 2010), mas também há grande influência dos genótipos (Bahry *et al.*, 2017; Sato *et al.*, 2019; Pereira *et al.*, 2022).

De forma geral, sementes de soja têm alcançado baixos valores de umidade (<10%), principalmente em regiões de elevadas temperaturas e baixas umidades relativas, nos meses de julho e agosto no Brasil, devido ao equilíbrio higroscópico. Portanto as análises de sementes no laboratório por meio de testes fisiológicos, como o teste de germinação, se dão principalmente

nestes meses em que os lotes se encontram com baixa umidade, impedindo que os lotes expressem seu máximo potencial germinativo principalmente pelos danos de embebição.

Para amenizar os danos por embebição no teste de germinação, é recomendada a técnica de pré-condicionamento das sementes, realizada antes da semeadura no substrato. Como recomendado nas Regras para Análise de Sementes - RAS (Brasil, 2009), quando as sementes apresentarem sensibilidade à embebição rápida deve-se realizar o pré-condicionamento, em “gerbox” com tela (do tipo utilizado no teste de envelhecimento acelerado), contendo 40 mL de água, pelo período de 16-24 horas a 25° C, ou conforme Toledo *et al.* (2010), que recomenda esse procedimento para sementes abaixo de 11% de umidade, sem necessariamente verificar se há sensibilidade à rápida embebição.

O uso do pré-condicionamento apresenta suas vantagens e assim pode amenizar problemas e anormalidades oriundas de uma embebição excessivamente rápida, pois as sementes apresentam menor lixiviação de eletrólitos (Rodrigues *et al.*, 2006). Por outro lado, há também desvantagens, principalmente na rotina dos laboratórios de controle de qualidade, pois a utilização do pré-condicionamento representa um dia a mais na condução do teste, além de gastos operacionais e financeiros. Assim alternativas que possam contribuir com a segurança das análises de forma rápida, econômica e segura devem ser avaliadas.

A utilização da vermiculita no teste de germinação, por meio da metodologia com o substrato RP+V (Rocha *et al.*, 2023), pode ser uma alternativa para atenuar os danos causados pela embebição. Essa hipótese é baseada na provável capacidade da vermiculita de reduzir a taxa de embebição das sementes.

O objetivo foi avaliar se a utilização do pré-condicionamento é necessária quando se faz uso da metodologia com o substrato RP+V, em função da umidade das sementes e do substrato utilizado no teste de germinação.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local

O experimento foi conduzido no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes, e o tratamento de sementes foi realizado na Unidade de Beneficiamento de Sementes (UBS)

localizado no Departamento de Agricultura (DAG), Escola de Ciências Agrárias de Lavras (ESAL) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brasil.

2.2 Delineamento experimental

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em um esquema fatorial 3 x 2 x 3, com quatro repetições de 50 sementes, envolvendo três graus de umidade das sementes no momento do teste, dois métodos de pré-condicionamento (com e sem) e três substratos de teste de germinação. As avaliações foram conduzidas separadamente para sementes tratadas com produtos fitossanitárias e não tratadas.

2.3 Caracterização inicial do lote e secagem

Sementes de um mesmo lote da cultivar NS 8080 IPRO, que apresentava os parâmetros físicos e fisiológicos para os testes de umidade, primeira contagem de germinação em rolo de papel (PC) e germinação em rolo de papel (G), emergência em bandeja (EM) e envelhecimento acelerado (Env. A) conforme Tabela 1, foram submetidas à secagem para obtenção dos graus de umidade desejados. A secagem foi realizada em secador experimental estacionário longitudinal regulado à temperatura de 35 °C (± 2 °C) e fluxo de ar de 23 m³, sendo monitorada a umidade das sementes até atingir o valor requerido.

Tabela 1 – Qualidade inicial do lote, antes da secagem e tratamento.

Parâmetros físicos e fisiológicos (%)				
Umidade inicial	PC	G	EM	Env. A
12,57	83	83	85	60

*PC = primeira contagem de germinação (5 dias), G = germinação (8 dias), EM = emergência em bandeja (8 dias) e Env. A = Envelhecimento acelerado.

Fonte: Do autor (2024).

Após a secagem, as sementes permaneceram em embalagem de papel Kraft e recobertas por um saco plástico, por um período de 12 horas, para estabilização da umidade na massa de sementes. Após estes processos, foram obtidos os lotes com as porções de sementes com valores específicos de 8%, 10% e 12% de umidade.

2.4 Tratamento de sementes e aferição de umidade

Após a secagem e estabilização do grau de umidade, as sementes foram pesadas e divididas em porções de 500 g para o subsequente processo de tratamento. O tratamento foi realizado utilizando a máquina Momesso Arktos Laboratório L2K BM, com calibração de 15 hertz no inversor do equipamento e aplicação seguida de homogeneização por 20 segundos, a fim de simular o processo industrial em bateladas. Todas as sementes foram tratadas com a receita Fortenza Duo®, que inclui fungicidas e inseticidas conforme Tabela 2. Além disso, foi adicionado um polímero (Biocroma vermelho Biogrow®, na proporção de 100 mL 100 kg⁻¹ de sementes).

Tabela 2 - Ingredientes ativos (i.a.) e produtos comerciais utilizados no tratamento químico de sementes de soja.

i.a.	Concentração i.a.	Produto comercial	Tipo ¹	Dose do produto comercial ²
Tiametoxam	350g L ⁻¹	Cruiser 350 FS®	I	200 mL
Ciantraniliprole	600g L ⁻¹	Fortenza 600 FS®	I	60 mL
Metalaxil-M	20g L ⁻¹			
Tiabendazol	150g L ⁻¹	Maxim Advanced®	F	100 mL
Fludioxonil	25g L ⁻¹			

¹ Tipo: I: inseticida; F: fungicida

² Dose: mL 100 kg⁻¹ de sementes

Fonte: Do autor (2024).

Após o tratamento, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel Kraft multifoliado, para então serem submetidos às avaliações de germinação em diferentes substratos.

A confirmação das diferentes umidades foi realizada após secagem e o tratamento químico das sementes, por meio da determinação do grau de umidade pelo método de estufa a 105 °C conforme descrito em Brasil (2009), e apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Umidade dos novos lotes após secagem e tratamento de sementes.

Tratamento	Umidade desejada (%)		
fitossanitário	12%	10%	8%
Sem tratamento	12,57	9,75	7,91
Com tratamento	12,01	9,84	7,72

Fonte: Do autor (2024).

2.5 Metodologias e avaliação

Para os tratamentos em que foi utilizado o pré-condicionamento antes da semeadura, este foi realizado utilizando caixas gerbox adaptadas com tela e adição de 40 mL de água no fundo e estes permaneceram por um período de 24 horas em câmaras do tipo BOD à temperatura de $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ (Brasil, 2009). Em seguida, as sementes foram submetidas ao teste de germinação em diferentes substratos descritos abaixo, concomitantemente com aquelas que não foram submetidas ao pré-condicionamento.

Os substratos avaliados foram em rolo de papel (RP), rolo de papel entre vermiculita (RP+V) e areia (EA), sendo a realização de cada descrita a seguir:

Germinação em rolo de papel (RP): as sementes foram semeadas em duas folhas de papel “germitest”, umedecidos com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato. Os rolos foram mantidos em germinador tipo mangelsdorf regulado à temperatura de $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. As avaliações foram realizadas cinco e oito dias após a semeadura, considerando o percentual de plântulas normais (Brasil, 2009). Aos cinco dias também foi realizado a avaliação de plântulas fortes, maiores que 5 cm.

Germinação em rolo de papel entre vermiculita (RP+V): em rolos de papel, umedecidos com água destilada em quantidade equivalente a 3,0 vezes o peso do papel. Sobre o papel já molhado (uma folha), foi adicionado uma camada fina e uniforme de vermiculita (de granulometria fina - 65 a 95% das partículas $> 1,2\text{ mm}$ ou média - 55 a 95% das partículas $> 2,4\text{ mm}$) umedecida (proporção de 1 g de vermiculita:1 mL de água) na quantidade de 100 mL por repetição. Em seguida as 50 sementes de cada repetição foram distribuídas com o auxílio de um contador de sementes e então cobertas com outra folha de papel umedecida e por fim os rolos foram fechados com 1 folha, como realizado em testes em substrato rolo de papel (RP). Os rolos foram mantidos em germinador tipo Mangelsdorf a $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. As contagens de plântulas normais foram realizadas aos cinco (Brasil, 2009) e sete dias após a semeadura. Aos cinco dias foi realizada a avaliação de plântulas fortes, maiores que 5 cm.

Germinação entre areia (EA): as sementes foram semeadas em areia colocadas em uma bandeja de fundo branco (51 x 30 x 9 cm), confeccionada em plástico, sobre uma camada uniforme de areia com granulometria média. As sementes foram cobertas com areia média, de forma a obter uma camada de aproximadamente 1 cm sobre as sementes. Após o semeio, a irrigação foi realizada à 60% da capacidade de retenção de água as bandejas foram tampadas

com outra bandeja, de forma que evite a evaporação, e foram acondicionadas em câmara de crescimento vegetal com temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umedecidas novamente quando necessário. A avaliação foi realizada aos cinco e oito dias, considerando o percentual de plântulas normais (Brasil, 2009). Aos cinco dias também foi realizado a avaliação de plântulas fortes, maiores que 5 cm.

2.6 Análise estatística

Os dados foram submetidos a uma análise de variância a um nível de significância de 5% utilizando o teste F. Quando as diferenças foram significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, também a 5% de significância. Todas as análises foram realizadas utilizando o software RStudio, com o auxílio do pacote ExpDes.pt (R Development Core Team, 2022; Ferreira, Cavalcanti, Nogueira, 2021).

3 RESULTADOS

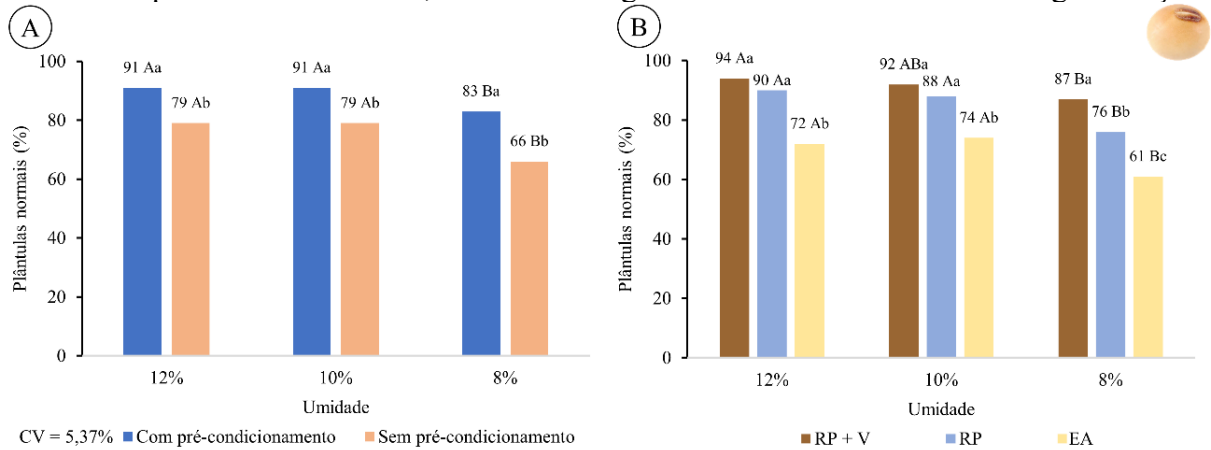
Em todas as variáveis estudadas foram observadas diferenças significativas, tanto para sementes não tratadas quanto para sementes tratadas.

3.1 Sementes não tratadas

O pré-condicionamento melhorou a expressão da qualidade do lote de sementes de soja sem tratamento em todas as umidades estudadas (Figura 1A). Para umidades acima ou igual a 10%, o aumento foi de 12 pontos percentuais (p.p.) de plântulas normais. Para umidade mais baixa, como 8%, o aumento foi de 17 p.p. de plântulas normais. Independente do uso do pré-condicionamento, lotes de sementes de soja com umidade de 8% apresentaram uma redução na porcentagem de plântulas normais na primeira contagem em relação a lotes com umidades superiores (Figura 1A).

Entre os substratos, quando as sementes estavam com 12 e 10% de umidade, RP+V e RP não diferiram entre si e foram superiores a EA. Já com umidade menor, 8%, maior ocorrência de plântulas normais foi em RP+V, seguido de RP e EA, com diferença absoluta em comparação a RP+V entre RP e EA de 11 e 26%, respectivamente (Figura 1B).

Figura 1 – Porcentagem de plântulas normais na primeira contagem de germinação, aos cinco dias após semeadura, de sementes de soja sem tratamento fitossanitário, com e sem pré-condicionamento, em diferentes graus de umidade e substratos de germinação.



*A - Médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando umidade dos lotes dentro do pré-condicionamento e minúscula comparando pré-condicionamento dentro da mesma umidade dos lotes, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. B - Médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando umidade dos lotes dentro do substrato e minúscula comparando substrato dentro da mesma umidade dos lotes, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

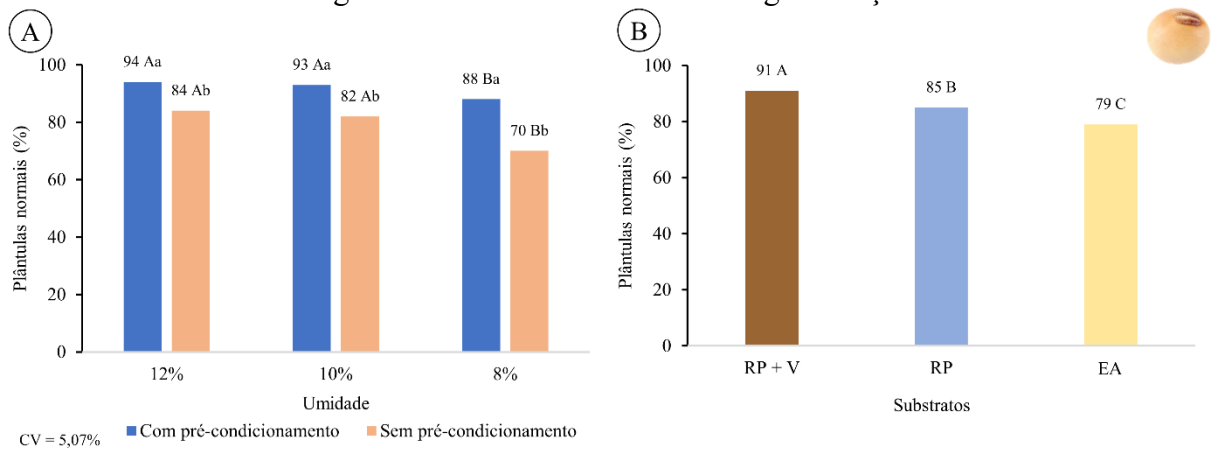
Fonte: Do autor (2024).

Conforme também constatado na primeira contagem, com a utilização do pré-condicionamento os lotes de sementes em todas as umidades avaliadas expressou seu potencial de germinação, principalmente para umidade mais baixa, 8%, com acréscimos de 11 p.p., para sementes com 10% e de até 18 p.p. para umidade de 8% (Figura 2A), reiterando a importância dessa técnica independente da metodologia de germinação utilizada.

A não utilização da técnica de pré-condicionamento em lotes de sementes com umidade abaixo de 10%, poderia levar a reprovação do lote para comercialização por apresentar apenas 70% de plântulas normais e não atingir o valor mínimo de 80% exigido no Brasil para comercialização (Brasil, 2013).

Para germinação em função dos substratos, independente da umidade das sementes, o uso de RP+V proporcionou valores superiores à RP e EA, com diferença entre RP+V e EA de 12 p.p., tendo EA apresentado valor médio abaixo de 80% (Figura 2B).

Figura 2 – Porcentagem de plântulas normais germinação, aos oito dias após sementeira, de sementes de soja sem tratamento fitossanitário, com e sem pré-condicionamento, em diferentes graus de umidade e substratos de germinação.

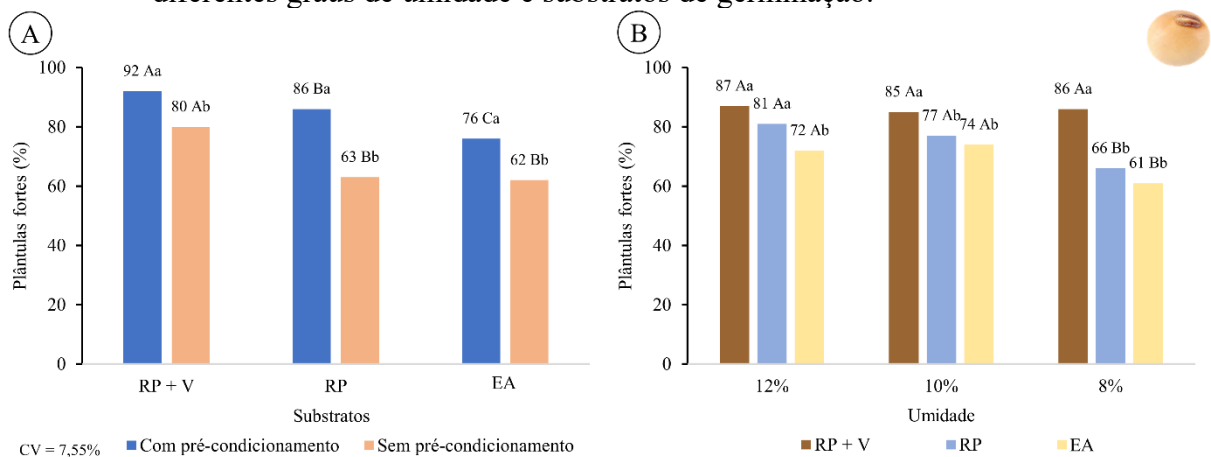


*A - Médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando umidade dos lotes dentro do pré-condicionamento e minúscula comparando pré-condicionamento dentro da mesma umidade dos lotes, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. B - Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Do autor (2024).

A utilização do pré-condicionamento promoveu o maior desenvolvimento das plântulas, resultando em maior porcentagem de plântulas fortes (Figura 3A). Sendo este fenômeno mais evidente no substrato RP, com o aumento de 23 p.p. de plântulas fortes.

Figura 3 – Porcentagem de plântulas fortes (>5 cm), aos cinco dias após sementeira, de sementes de soja sem tratamento fitossanitário, com e sem pré-condicionamento, em diferentes graus de umidade e substratos de germinação.



*A - Médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando substrato dentro do pré-condicionamento e minúscula comparando pré-condicionamento dentro do mesmo substrato, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. B - Médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando umidade dos lotes dentro do substrato e minúscula comparando substrato dentro da mesma umidade dos lotes, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Do autor (2024).

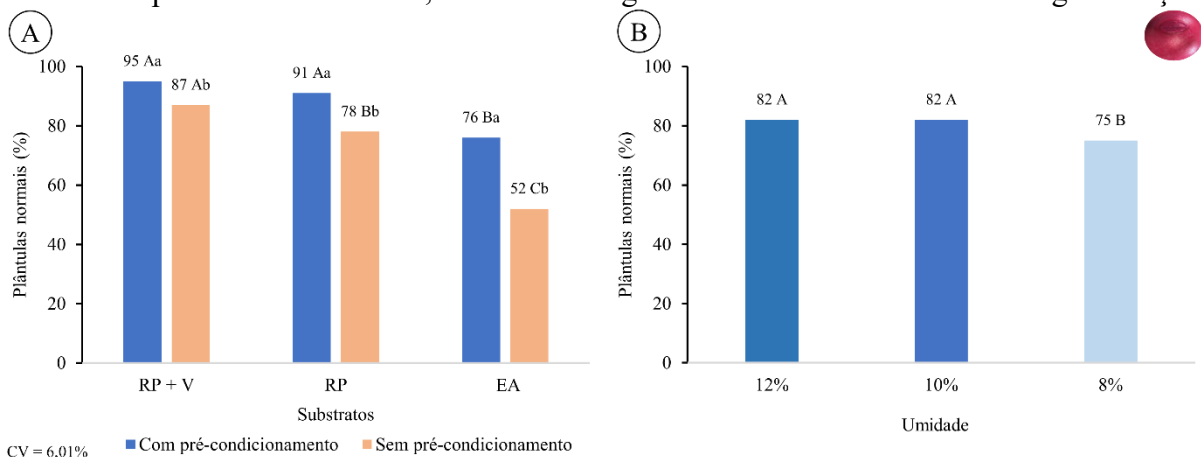
O substrato RP+V proporcionou maior porcentagem de plântulas fortes, tanto em lotes pré-condicionados quanto em lotes sem o uso dessa técnica (Figura 3A). No entanto, esse efeito foi mais evidente quando não se aplicou o pré-condicionamento. Em todas os substratos, o pré-condicionamento foi benéfico para ocorrência de plântulas fortes (Figura 3A).

Nos substratos de RP e EA, lotes de sementes com umidade 8% apresentaram menor porcentagem de plântulas fortes. O substrato RP+V proporcionou maior porcentagem de plântulas fortes, principalmente em lotes de umidade inferior a 10%, com aumento de até 25 p.p. de plântulas fortes em relação ao EA (Figura 3B).

3.2 Sementes tratadas

O pré-condicionamento melhorou a expressão da qualidade do lote de sementes de soja com tratamento fitossanitário em todas as metodologias, assim como nas não tratadas, com aumentos de até 24 p.p. de plântulas normais, como no substrato EA. Com uso do pré-condicionamento, RP+V e RP não diferiram e foram superiores ao EA, já sem o uso dessa técnica, RP+V proporcionou maior porcentagem de plântulas normais, com diferença de 35 p.p. em relação ao EA (Figura 4A). Ademais, lotes de sementes com umidade inferior a 10% apresentaram menor expressão do potencial germinativo (Figura 4B).

Figura 4 – Porcentagem de plântulas normais na primeira contagem de germinação, aos cinco dias após semeadura, de sementes de soja com tratamento fitossanitário, com e sem pré-condicionamento, em diferentes graus de umidade e substratos de germinação.

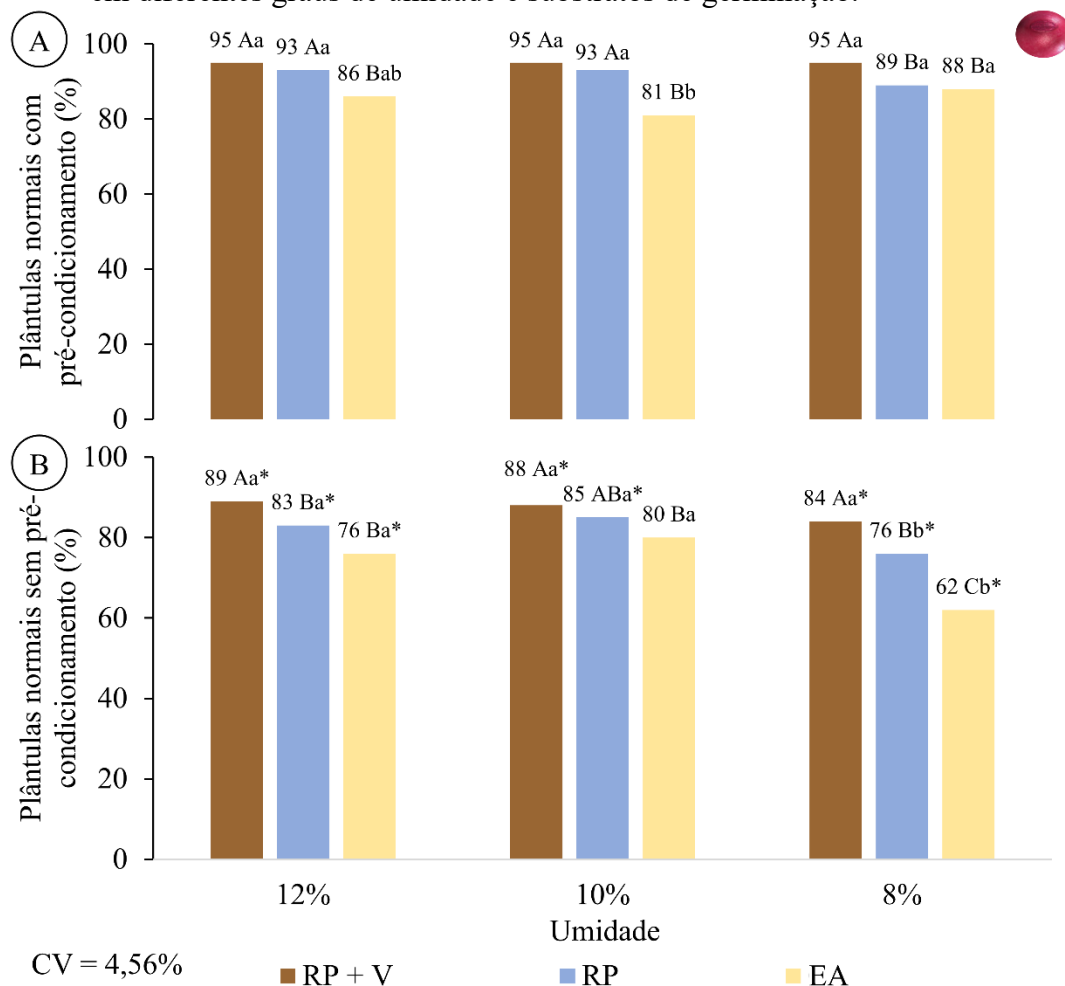


*A - Médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando substrato dentro do pré-condicionamento e minúscula comparando pré-condicionamento dentro do mesmo substrato, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. B - Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Do autor (2024).

Com a utilização do pré-condicionamento, os substratos RP e RP+V apresentaram maior expressão da germinação do lote para as umidades mais elevadas, 12 e 10%. Já com a semente mais seca, 8%, o substrato de RP+V foi superior, levando a considerar que com sementes muito secas, 8%, o pré-condicionamento utilizado não foi suficiente para amenizar possíveis danos por embebição nas metodologias RP e EA (Figura 5A), também observado em sementes não tratadas, porém mais pesquisas para elucidar essa proposição são necessárias. Sem a utilização do pré-condicionamento, as tendências das diferenças entre as metodologias foram semelhantes às condicionadas, porém com maiores intensidades. O substrato RP+V foi superior em todas as umidades das sementes, com 8% a diferença em relação a EA foi de 22 p.p. (Figura 5B).

Figura 5 – Porcentagem de plântulas normais germinação, aos oito dias após semeadura, de sementes de soja sem tratamento fitossanitário, com e sem pré-condicionamento, em diferentes graus de umidade e substratos de germinação.



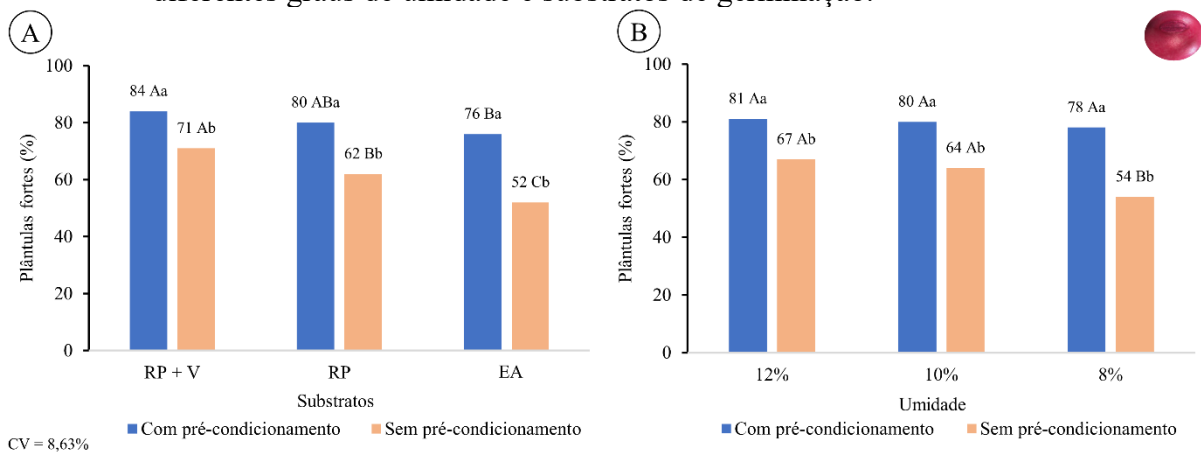
*Médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando substratos dentro da mesma umidade dos lotes, minúscula comparando umidade dos lotes dentro do mesmo substrato e * comparando pré-condicionamento dentro da mesma umidade dos lotes e substrato não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Do autor (2024).

Quando foi realizado o pré-condicionamento, para os substratos RP e RP+V não houve efeito da umidade do lote sobre a porcentagem de plântulas normais. Já sem o pré-condicionamento, novamente para RP+V não houve diferença entre as umidades, para RP e EA a umidade de 8% ocasionou menores valores. Em todas as situações houve diferença entre uso ou não do pré-condicionamento. Portanto, a sua utilização faz com que os lotes de sementes expressem seu potencial de germinação (Figura 5).

O pré-condicionamento favoreceu o desenvolvimento das plântulas em todas os substratos (Figura 6A), a exemplo do também observado para sementes sem tratamento. Mesmo com pré-condicionamento, sementes avaliadas no substrato EA apresentaram menor porcentagem de plântulas fortes, fato também observado sem o uso do pré-condicionamento, porém em maior intensidade. Tanto com uso quanto com a não utilização do pré-condicionamento, RP+V proporcionou maiores porcentagens de plântulas fortes (Figura 6A).

Figura 6 – Porcentagem de plântulas fortes (>5 cm), aos cinco dias após semeadura, de sementes de soja com tratamento fitossanitário, com e sem pré-condicionamento, em diferentes graus de umidade e substratos de germinação.



*A - Médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando substratos dentro do pré-condicionamento e minúscula comparando pré-condicionamento dentro do mesmo substrato, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. B - Médias seguidas de mesma letra, maiúscula comparando umidade dos lotes dentro do pré-condicionamento e minúscula comparando pré-condicionamento dentro da mesma umidade, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Do autor (2024).

O uso do pré-condicionamento promoveu o maior desenvolvimento de plântulas em todas as umidades das sementes estudadas, sendo mais evidente na umidade de 8%, com um acréscimo de 24% p.p. em relação às não pré-condicionadas (Figura 6B).

4 DISCUSSÃO

É possível observar que na maioria das variáveis analisadas lotes de sementes com grau de umidade abaixo de 10% demonstraram menor qualidade. Portanto, a umidade inicial das sementes influenciou na expressão da qualidade das sementes de soja durante o teste de germinação, sendo que em sementes com umidade inicial abaixo de 12%, houve maior ocorrência de danos por embebição rápida, sendo necessário assim a utilização do pré-condicionamento. Além disso, a semente quando submetida ao pré-condicionamento, possui um maior período de tempo para reparar as lesões metabólicas antes de germinar (Ataíde *et al.*, 2016).

Toledo *et al.* (2010) relataram que sementes de soja com umidade inferior a 11% são mais suscetíveis a danos por embebição em condições de laboratório, onde os substratos de germinação apresentam alta disponibilidade hídrica. Isso ocorre porque a rápida absorção de água pode causar danos irreversíveis às membranas celulares das sementes.

Foi pertinente a utilização da técnica de pré-condicionamento no teste de germinação para sementes de soja abaixo de 12% de umidade, sejam elas tratadas ou não, pois ocasionou a maior expressão da qualidade fisiológica. Isso se dá, pois o pré-condicionamento desempenha um papel no início do processo germinativo, mitigando os danos causados pela rápida absorção de água durante o processo de reparação metabólica de componentes subcelulares, incluindo a membrana plasmática, e assim reduzindo a porcentagem de plântulas com anormalidades (Silva, Villela, 2011).

Ademais, observou-se neste estudo que o uso da técnica de pré-condicionamento pode evitar o descarte dos lotes de sementes devido ao uso de procedimento inadequado, pois a legislação brasileira determina germinação superior a 80% para sementes soja (Brasil, 2013). Os efeitos benéficos dessa técnica foram mais proeminentes e significativos com sementes mais secas, com umidade abaixo ou igual a 10%, sobretudo nas metodologias RP e EA. É comum a ocorrência de lotes de sementes de soja com valores baixos de umidade, em função do equilíbrio higroscópico dos ambientes de armazenamento, temperatura, umidade relativa do ar, regiões e épocas predominantes das análises fisiológicas de sementes na cadeia produtiva de sementes de soja no Brasil.

Em relação aos substratos empregados, foi observado que o EA apresentou os menores índices de plântulas normais e fortes. O teste de germinação em areia, embora recomendado pela RAS, enfrenta dificuldades e fontes potenciais de erro que podem comprometer a confiabilidade dos resultados. Uma das principais preocupações reside na complexidade de controlar a quantidade de água presente no substrato, especialmente se a irrigação for necessária durante o teste, como o caso do presente trabalho, pois tanto a falta quanto excesso podem ser prejudiciais. O excesso de umidade pode resultar em deficiência na disponibilidade de oxigênio devido à redução na taxa respiratória, o que por sua vez retarda o processo de germinação, inibe o crescimento das raízes e aumenta a incidência de plântulas anormais (Jeromini *et al.*, 2019). Sendo assim, possivelmente por este e outros fatores, os lotes de sementes estudadas apresentaram baixa germinação neste substrato.

Por outro lado, a utilização de RP+V se mostrou menos favorável à ocorrência de danos por embebição e consequentemente danos às sementes e plântulas em relação à RP e EA, esse fato pode estar relacionado à maior área de contato com o substrato, que retém mais a água disponível gerando assim condições mais próximas às condições de campo. O que leva a inferir que o substrato RP+V pode amenizar danos de embebição em situações de sementes muito secas.

Além disso, a utilização da metodologia RP+V facilitou a avaliação de plântulas normais, por favorecer o desenvolvimento inicial e maior ocorrência de plântulas fortes. Esse substrato minimiza possíveis problemas de fitotoxicidade em sementes tratadas com determinados produtos fitossanitários (Rocha *et al.*, 2020; Tunes *et al.*, 2021) e danos por embebição. Ficou evidente, tanto em sementes sem tratamento químico quanto nas sementes tratadas, melhores condições de germinação e desenvolvimento das plântulas, com maior expressão de plântulas fortes, acima de 5 cm. Portanto, este substrato proporcionou maior facilidade de avaliação de plântulas, amenizando chances de erro e facilitando a interpretação do teste.

A utilização da vermiculita no teste de germinação pode reduzir a exposição das sementes a produtos fitossanitário, pela sua capacidade de absorvê-los (Cuong, Hue, Kim, 2019), minimizando os potenciais efeitos fitotóxicos. Isso torna a análise e os resultados do teste mais precisos e representativos para as condições reais em campo, onde o solo desempenha a função de substrato (Rocha *et al.*, 2023).

4 CONCLUSÕES

O uso do pré-condicionamento aumenta a expressão da qualidade em sementes de soja, tratadas e não tratadas, de lotes com umidade entre 12 e 8%, sendo o efeito mais evidente para lotes com umidade inferior a 10%.

Sem a utilização do pré-condicionamento, no substrato RP+V a expressão da qualidade fisiológica do lote é maior em relação à RP e EA.

A utilização da metodologia de germinação com o substrato RP+V não dispensa o uso de pré-condicionamento, para lotes de sementes de soja com grau de umidade entre 12 e 8%.

A metodologia com o substrato RP+V promove maior expressão da qualidade em relação à RP e EA, com maior desenvolvimento de plântulas fortes o que facilita a avaliação do teste de germinação, amenizando chances de erro e facilitando a interpretação do teste.

REFERÊNCIAS

- ATAÍDE, M. G. *et al.* Alterações fisiológicas durante a hidratação de sementes de *Dalbergia nigra* ((Vell.) Fr. All. ex Benth.). **Ciência Florestal**, v. 26, n. 2, 2016. <https://doi.org/10.5902/1980509822761>
- BAHRY, C. A. *et al.* Physiological quality and imbibitions of soybean seeds with contrasting coats1. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, p. 125-133, 2017. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170014>
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa MAPA nº 45 de 17/09/2013**. Brasília: MAPA/GAB, 2013. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/copy_of_INN45de17desetembrede2013.pdf. Acesso em: 25 jan. 2024.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ ACS, 2009. 395p.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. v.11, Safra 2023/2024, quarto levantamento, janeiro, 2024. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/51274_e40f1bba791d27a4c67a29c5f29781ff>. Acesso em: 25 jan. 2024.
- CUONG, N. D.; HUE, V. T.; KIM, Y. S. Thermally expanded vermiculite as a risk-free and general-purpose sorbent for hazardous chemical spillages. **Clay Minerals**, v. 54, n. 3, p. 235-243, 2019. <https://doi.org/10.1180/clm.2019.34>
- FERREIRA E. B., CAVALCANTI P. P., NOGUEIRA D. A. **ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (português)**. R package version 1.2.2, 2021. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/ExpDes.pt/index.html> >. Acesso em: 25 jan. 2024.
- FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 94p. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/193315/1/Doc-406-OL.pdf>
- JEROMINI, T. S. *et al.* The envelope method and substrate wetting in the germination test of onion seeds. **Revista Ciência Agronômica**, v. 50, p. 169-176, 2019. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20190020>
- MBOFUNG, G. C. Y. *et al.* Effects of storage temperature and relative moisture on viability and vigor of treated soybean seeds. **Crop Science**, v. 53, n. 3, p. 1086-1095, 2013. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.09.0530>
- PEREIRA, L. S. *et al.* Toxicogenetic effects are involved in the occurrence of imbibitional damage in soybean seeds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 44, p. e53555, 2022. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v44i1.53555>

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, 2022. URL <https://www.R-project.org/>

ROCHA, D. K. *et al.* Does the substrate affect the germination of soybean seeds treated with phytosanitary products?. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 44, p. e020119, 2020. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044020119>

ROCHA, D. K. *et al.* Validation of the paper roll plus vermiculite (PR+ V) germination test methodology for treated corn seeds. **Journal of Seed Science**, v. 45, p. e202345026, 2023. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v45274506>

RODRIGUES, M. B. C. *et al.* Pré-hidratação em sementes de soja e eficiência do teste de condutividade elétrica. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, p. 168-181, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222006000200023>

SATO, K. *et al.* Structural features of the aleurone layer of the seed coat associated with imbibition injury in soybean. **Breeding Science**, v. 69, n. 2, p. 364-370, 2019. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.18181>

SILVA, K. R. G.; VILLELA, F. A. Pré-hidratação e avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, p. 331-345, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000200016>

TOLEDO, M. Z. *et al.* Imbibition damage in soybean seeds as affected by initial moisture content, cultivar and production location. **Seed Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 399-408, 2010. <https://doi.org/10.15258/sst.2010.38.2.13>

TUNES, C. D. *et al.* Alternative substrates for the germination test with treated soybean seeds. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 93210-93224, 2021. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n9-470>

ARTIGO 3 - VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA DO TESTE DE GERMINAÇÃO COM ROLO DE PAPEL E VERMICULITA (RP+V) PARA SEMENTES DE SOJA TRATADAS

* Artigo redigido conforme norma do periódico científico (Journal of Seed Science) a que foi submetido, seguindo as normas do próprio periódico, esta é uma versão preliminar, considerando que o conselho editorial do periódico poderá sugerir alterações para adequá-lo ao seu próprio estilo.

VALIDATION OF THE ALTERNATIVE GERMINATION TEST FOR TREATED SOYBEAN SEEDS

Validation of the paper roll plus vermiculite (PR+V) germination test methodology for treated soybean seeds

ABSTRACT: The use of a germination methodology is crucial if we are to be able to express the true physiological quality of the seeds, especially when they are treated with phytosanitary products, since in some substrates phytotoxicity can occur and the values are underestimated. In this context, the aim of this study was to evaluate the alternative methodology of germination on paper rolls plus vermiculite (PR+V) and its statistical validation for use in routine laboratories. Seeds of two cultivars with different levels of vigor and chemical treatments were used. The samples were prepared and sent to 13 laboratories accredited by the Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), Brazil. The data collected was analyzed using statistical methodologies to assess the repeatability and reproducibility of the method, as well as its precision and accuracy. The critical limits set at 1% and 5% for normal seedlings assessed using the vermiculite paper roll approach are met. The data from normal soybean seedlings evaluated using the PR+V methodology show repeatability, reproducibility, precision and accuracy within the critical parameters of 1% and 5%. The proposed methodology is suitable and reliable for routine implementation in the evaluation of soybean seeds, especially those treated with agrochemicals.

Index Terms: Quality control, Chemical seed treatment, Reproducibility and repeatability, Substrate, *Glycine Max* L.

Validação da metodologia do teste de germinação em rolo de papel mais vermiculita (RP+V) para sementes tratadas de soja

RESUMO: O uso de uma metodologia de germinação é crucial para que possibilite a expressão da real qualidade fisiológica das sementes, principalmente quando estão tratadas com produtos fitossanitários, pois em alguns substratos pode ocorrer fitotoxidez e os valores serem subestimados. Neste contexto, objetivou-se neste estudo avaliar a metodologia alternativa de germinação em rolo de papel mais vermiculita (RP+V) e verificar a viabilidade dessa metodologia para uso em laboratórios de rotina. Utilizou-se sementes de duas cultivares, com diferentes níveis de vigor e tratamentos químicos. As amostras foram preparadas e enviadas para 13 laboratórios credenciados no Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), Brasil. Nas análises dos dados coletados foram consideradas metodologias estatísticas para avaliar a repetibilidade e a reprodutibilidade do método, bem como avaliar sua precisão e acurácia. Os limites críticos estabelecidos em 1% e 5% para plântulas normais avaliadas pela abordagem do rolo de papel com vermiculita são atendidos. Os dados de plântulas normais de soja avaliadas com a metodologia RP+V apresentam repetibilidade, reprodutibilidade, precisão e acurácia dentro dos parâmetros críticos de 1% e 5%. A metodologia proposta é adequada e confiável para ser implementada de forma rotineira na avaliação de sementes de soja, sobretudo para as tratadas com produtos fitossanitários.

Termos para indexação: Controle de qualidade, Tratamento químico de sementes, Reprodutibilidade e repetibilidade, Substrato, *Glycine Max L.*

Introdução

As metodologias de germinação em rolo de papel (RP) e entre areia (EA) (Brasil, 2009) são amplamente empregadas na avaliação de sementes de soja, pois são metodologias oficiais para emissão de boletins de análises de sementes que possibilitam sua comercialização, se os valores mínimos preconizados na legislação nacional forem atingidos (Brasil, 2013). Todavia, existem relatos de resultados subestimados da qualidade de lotes em função da metodologia utilizada, principalmente quando as sementes estão tratadas com produtos fitossanitários, devido à possível fitotoxidez. Isso compromete a relação entre os resultados obtidos no teste e a real qualidade fisiológica do lote, sobretudo em condições de cultivo a campo. Dentre os fatores que influenciam nos resultados dos testes estão os ingredientes ativos (i.a.) utilizados no tratamento químico das sementes e o substrato do teste de germinação (Rocha et al., 2020; Tunes et al., 2020; Carvalho et al., 2020; Carvalho et al., 2021; Rocha et al., 2023).

No Brasil, os testes de germinação para fins de comercialização dos lotes de sementes são realizados em conformidade com as Regras para Análise de Sementes (RAS), definida pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) (Brasil, 2009), a fim de obter resultados comparáveis entre os laboratórios e minimizar possíveis discrepâncias entre as análises na cadeia produtiva de sementes.

Atualmente, os tratamentos químicos de sementes, por razões técnicas e logísticas, são predominantemente conduzidos antes do armazenamento, especialmente através do método de tratamento industrial de sementes (TSI) (Medeiros et al., 2023; Reis et al., 2023). Por outro lado, o tratamento de sementes pode afetar o potencial germinativo das sementes dependendo das combinações dos fatores envolvidos, dentre eles o produto fitossanitário empregado e a composição final da calda (Santos et al., 2018; Oliveira et al., 2020; Moraes et al., 2022; Carvalho et al., 2022; Santos et al., 2023). Nesse sentido, ajustes na metodologia e execução do teste de germinação são

necessários para aumentar sua precisão e representatividade, especialmente no contexto de sementes tratadas.

O substrato empregado no teste de germinação exerce influência nos resultados, devido à sua estrutura, aeração, capacidade de retenção de água e suscetibilidade à infestação por patógenos, entre outros fatores. Portanto, a escolha do substrato deve corresponder às demandas fisiológicas de germinação de cada espécie, levando em consideração o tamanho e a forma das sementes (Brasil, 2009).

Para a avaliação da germinação na cultura da soja, os substratos oficialmente indicados são o rolo de papel e a areia (Brasil, 2009). No entanto, o uso da vermiculita pode ser vantajoso e relevante em determinados contextos, especialmente para sementes tratadas com produtos fitossanitários (Tunes et al., 2020; Rocha et al., 2023).

Dada a ampla adoção de sementes de soja tratadas com produtos fitossanitários, são necessários estudos para avaliar ajustes e novas metodologias validadas, para uma maior acurácia das avaliações nesse cenário. Desta forma, contribuindo para uma satisfatória correlação entre os resultados dos testes de germinação conduzidos nos laboratórios e a qualidade real observada nos campos de produção de grãos, aliado a uma viabilidade econômica e operacional nos laboratórios.

O propósito da validação de metodologias é estabelecer um sistema que possibilite a adoção de novos métodos de teste, comparar testes similares e a revisar métodos existentes de avaliação da qualidade das sementes. Tais métodos devem ser aplicáveis por diversos laboratórios, assegurando repetibilidade e reprodutibilidade, além da precisão e acurácia do mesmo (ISTA, 2008; Rocha et al., 2023). Geralmente no Brasil a metodologia utilizada para validação de teste de análise de sementes é a Method Validation for Seed Testing da ISTA (Associação Internacional de Análise de Sementes) (ISTA, 2007). Sendo assim, com a validação da metodologia, possivelmente ela venha a integrar o capítulo de germinação da RAS.

Portanto, o objetivo neste estudo foi avaliar a utilização da metodologia de germinação em rolo de papel com adição de vermiculita (RP+V) e verificar a possibilidade de validação do método, estatisticamente, para uso em laboratórios de rotina para sementes de soja.

Material e Métodos

As ações foram executadas de acordo com o preconizado no Method Validation for Seed Testing da ISTA (Associação Internacional de Análise de Sementes) (ISTA, 2007) e foram organizadas e resumidas em um organograma (Figura 1).

Na primeira etapa, denominada procedimentos iniciais, foram selecionadas duas cultivares de soja, sendo uma com maior e outra com menor sensibilidade ao tratamento de sementes com inseticidas (TS). Para cada cultivar foram selecionados dois lotes (Tabela 1), com diferentes níveis de qualidade fisiológica, que foram avaliados inicialmente e submetidos à verificação de sua homogeneidade, por meio do teste de valor H descrito na RAS (Brasil, 2009).

Na segunda etapa segundo ISTA, foi realizada a distribuição das amostras de cada lote e envio das instruções dos procedimentos a serem realizados para a condução do teste para os laboratórios de análises de sementes credenciados junto ao MAPA, sendo esses laboratórios selecionados aleatoriamente.

Com os resultados, na terceira etapa foi realizada a avaliação dos resultados da validação por meio de metodologias estatísticas apropriadas. A validação foi conduzida no Laboratório Central de Pesquisa de Sementes da Escola de Ciências Agrárias de Lavras (ESAL) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, Brasil.

Etapa 1 - Caracterização inicial da qualidade dos lotes de sementes de soja e teste de homogeneidade

Para a caracterização inicial e confirmação da qualidade fisiológica das cultivares selecionadas de acordo com a sensibilidade ao tratamento químico foram realizados os seguintes testes:

Germinação entre papel (G): as sementes foram semeadas em folhas de papel “germitest”, umedecidos com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato (Brasil, 2009), com oito repetições de 50 sementes. Os rolos foram mantidos em germinador regulado à temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. As contagens do teste foram realizadas cinco e oito dias após a semeadura, considerando o percentual de plântulas normais, de acordo com os critérios das RAS.

Envelhecimento acelerado (EA): o método utilizado foi o da caixa plástica tipo gerbox adaptada. Em cada gerbox foram adicionados 40 mL de água e uma camada única de sementes cobrindo toda a tela suspensa. Posteriormente, os gerbox foram colocados em câmara tipo BOD a $41\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 horas (Marcos-Filho, 2020). Após este período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme metodologia descrita anteriormente e a avaliação foi realizada aos cinco dias após a semeadura, com os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Emergência em substrato com condições controladas (ES): com quatro repetições de 50 sementes, a semeadura foi realizada em substrato de areia e terra na proporção de 2:1 respectivamente, sendo umedecido com 60% da sua capacidade de retenção de água. Após a semeadura, as bandejas plásticas (51 x 30 x 9 cm) contendo o substrato, foram acondicionadas em câmara de crescimento vegetal com temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 dias, com contagem final de plântulas emergidas expressos em porcentagem (Krzyzanowski et al., 2020).

Para verificação da homogeneidade dos lotes foi realizado o *Teste H* com os resultados do teste de germinação (Brasil, 2009). Todos os lotes que forem considerados homogêneos serão selecionados para a segunda etapa.

Etapa 2 – Preparação, distribuição das amostras e procedimentos para os laboratórios

Todos os lotes foram tratados com 100 mL para 100 kg de sementes do fungicida Maxim Advanced® (Tiabendazol, Metalaxil-M e Fludioxonil) e diferentes inseticidas, conforme Tabela 2, totalizando 4 tratamentos. O processo de tratamento foi efetuado em máquina Momesso Arktos

Laboratório L5K, na rotação de 20 hertz por 20 segundos, para simulação de tratamento industrial em bateladas.

As combinações dos quatro lotes com os quatro tratamentos das sementes foram identificadas com números sequenciais de 1 a 16, conforme Tabela 3. Os laboratórios participantes tiveram acesso somente aos números de protocolos, de 1 a 16.

As amostras de sementes foram acondicionadas em sacos de papel multifoliado e colocadas em caixas de isopor para o envio aos laboratórios participantes (por meio de transportadora), juntamente com a vermiculita média, as instruções para a realização e avaliação do teste de RP+V, além de um questionário para avaliar a execução prática da metodologia.

Todos os laboratórios selecionados eram de prestação de serviço ou de pesquisa, credenciados pelo MAPA e localizados em diferentes estados do Brasil (Tabela 4). O tempo de transporte

No protocolo de execução do teste de germinação RP+V enviado aos laboratórios, a metodologia descrita foi a seguinte:

Germinação em rolo de papel mais vermiculita (RP+V): oito repetições de 50 sementes, em rolos de papel, umedecidos com água destilada em quantidade equivalente a 3,0 vezes o peso do papel. Sobre o papel já umedecido (2 folhas), foi adicionada uma camada fina e uniforme de vermiculita (de granulometria fina – 65 a 95% das partículas > 1,2 mm ou média – 55 a 95% das partículas > 2,4 mm) umedecida (proporção de 1 g de vermiculita:1 mL de água) na quantidade de 100 mL por repetição. Em seguida, as 50 sementes de cada repetição foram distribuídas com o auxílio de um contador de sementes e então cobertas com outra folha de papel umedecida e por fim foram confeccionados rolos como normalmente feito em testes em substrato rolo de papel (RP). Os rolos foram mantidos em germinador tipo mangelsdorf a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. As contagens de plântulas normais foram realizadas aos cinco e sete dias após a semeadura (Brasil, 2009).

Os laboratórios foram informados da data de envio das amostras, sendo solicitados a rápida execução do teste para evitar a deterioração das sementes, bem como e o envio imediato dos resultados do teste.

Etapa 3 – Avaliação dos resultados e validações estatísticas

Nesta etapa, foram utilizados métodos estatísticos para identificar a presença de valores discrepantes e outliers nas variâncias, avaliar os efeitos de laboratórios e de amostras, verificar a precisão (repetibilidade e reprodutibilidade), exatidão e acurácia.

Análise estatística: os dados considerados nas análises estatísticas corresponderam ao número de plântulas normais obtidas em cada amostra (oito repetições de 50 sementes), formando 400 sementes por amostra. A variável resposta em estudo foi a porcentagem de plântulas normais observadas nas amostras encaminhados aos laboratórios. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R Core Team, 2022).

Identificação de valores discrepantes (outliers): para a detecção de valores discrepantes em todos os laboratórios foi utilizado o método de box-plot funcional (Sun e Genton, 2011) e de Hampel (Huber, 1996). Os outliers detectados foram retirados conforme instruções da ISTA (ISTA, 2007).

Avaliação dos efeitos de laboratórios: foram realizadas análises de variância da porcentagem de plântulas normais, sendo suas médias comparadas e agrupadas utilizando o teste de Scott-Knott a 5%. Nas análises de variância foram considerados um esquema fatorial 16 x 13, ou seja, 16 amostras (4 lotes de sementes, de 2 cultivares e 2 níveis de qualidade, x 4 tratamentos químicos) x 13 laboratórios, em delineamento inteiramente casualizado. Sendo o fator laboratório significativo é necessário realizar testes que verifiquem a presença de outliers nas variâncias (ISTA, 2007).

Identificação de outliers nas variâncias: em cada amostra foi realizado o teste de Levene utilizando a média de plântulas normais. No caso da detecção de presença de *outlier*, o laboratório

com maior variância foi retirado e o processo repetido, até que restassem apenas os laboratórios com variâncias homogêneas de acordo com o teste Levene. (ISTA, 2007).

Avaliação da precisão (Repetibilidade e Reprodutibilidade) e das estatísticas h e k de Mandel:

A variância de repetibilidade (S_r^2) representa uma medida da variabilidade dentro dos laboratórios (ISO 5725-2, 1994). Com seu valor determinado, foi calculado o limite crítico (r) de repetibilidade, estimado por $r = S_r D$, em que D é obtido da tabela de Tukey (1977), com graus de liberdade tendendo para o infinito e grau de confiança de 99% (Banzatto e Kronka, 2006). Esse valor de r foi comparado com a amplitude entre as repetições de cada laboratório, em cada amostra, avaliando-se, então, quais laboratórios tiveram repetibilidade aceitável, com grau de confiança de 99%.

A variância de reprodutibilidade (S_R^2) representa uma medida da variabilidade entre e dentro dos laboratórios (ISO 5725-2, 1994) e com seu valor determinado foi calculado o limite crítico (R) de reprodutibilidade para cada amostra, estimado por $R = S_R D$, em que D é obtido da tabela de Tukey (1977). Esse valor de R foi comparado com a amplitude entre os laboratórios para cada repetição, determinando, assim, quais amostras tiveram reprodutibilidade aceitável, com grau de confiança de 99%.

A verificação da precisão e a acurácia dos resultados de plântulas normais de cada um dos laboratórios foi realizada com base nas estatísticas k e h de Mandel e os seus respectivos valores críticos (Mandel, 1991). O valor k , dado pela razão entre o desvio padrão de plântulas normais de cada laboratório e o desvio padrão de repetibilidade por lote, identificou laboratórios que apresentaram diferenças entre repetições de plântulas normais acima do limite crítico. Já o valor h indicou laboratórios que superestimaram (acima do valor crítico positivo) ou subestimaram (abaixo do valor crítico negativo), valores de percentual de plântulas normais em relação aos demais.

Resultados e Discussão

Na caracterização inicial dos lotes foram constatadas diferenças entre os lotes quanto à qualidade fisiológica, em todos os testes, exceto para germinação (Tabela 5). De forma geral, os lotes A e D apresentaram sementes com maior qualidade que B e C, porém com variações em função dos testes, a exemplo do vigor por envelhecimento acelerado em que o lote A foi superior, seguido do D e menores valores para B e C, sem distinção entre eles (Tabela 5). Portanto, o estudo atendeu ao requisito de incluir pelo menos três diferentes níveis de qualidade de sementes (ISTA, 2007).

Todos os quatro lotes apresentaram valor H inferior a zero (Tabela 6), considerando a linha correspondente a 8 (N) e coluna para atributos de pureza e germinação/sementes não palhentas, na Tabela 1.2 das RAS (Brasil, 2009), obtém-se o valor crítico de H igual a 1,80, a 1% de probabilidade. Como todos os valores de H calculados foram menores que o valor H crítico tabelado, todos os lotes foram considerados não heterogêneos, dessa forma sendo possível a continuidade da validação com a utilização de todos os lotes.

Por meio dos box-plots apresentados na Figura 2 foi possível detectar possíveis valores discrepantes. A linha horizontal no centro da caixa indicou a mediana, as caixas representaram os quartis e as linhas verticais caracterizaram as caudas. Para identificar quais desses pontos seriam de fato considerados *outliers*, aplicou-se o método de Hampel. Os pontos representaram possíveis valores dos analistas que são candidatos a *outliers* em cada amostra e laboratório, sendo estes excluídos antes da realização do próximo procedimento estatístico, a ANOVA.

Estes valores discrepantes se dão pelo efeito combinações dos fatores envolvidos, dentre eles o produto fitossanitário empregado (Santos et al., 2018; Carvalho et al., 2022; Santos et al., 2023) e a o tempo de transporte das amostras do tratamento até o início das análises nos laboratórios, que em média foi de 21 dias de transporte em condições não controladas, tendo laboratórios com o intervalo entre 5 e 28 dias.

A análise de variância (ANOVA) foi realizada considerando o experimento fatorial 16 x 13 (Tabela 7) e o delineamento inteiramente casualizado. Verificou-se diferença significativa tanto entre as amostras quanto entre os laboratórios, havendo também uma interação significativa entre eles ($p < 0,01$).

Existem diferenças significativas no fator amostras, Tabela 7, devido à utilização de diferentes i.a. para tratamento fitossanitário, diferentes cultivares e também variações nos níveis de qualidade fisiológica. Portanto, eram esperadas essas diferenças, além disso para validações são exigidos pela ISTA a inclusão de lotes com pelo menos três níveis distintos de qualidade (ISTA, 2007). Isso já foi observado na Tabela 5, onde os lotes exibiram diferenças em relação ao vigor.

Em relação às diferenças entre os laboratórios, isso pode estar relacionado à sensibilidade do teste F em grandes amostras. Isso ocorre pois o teste F é uma razão entre duas variâncias e a variância diminui à medida que o tamanho da amostra aumenta. Consequentemente, a significância do teste F se torna maior à medida que o tamanho da amostra cresce, aumentando a probabilidade de rejeitar a hipótese nula (Howell, 2012).

É importante salientar que, antes de conduzir a análise de variância, foi realizado o teste de Shapiro-Wilk, cujo resultado não foi significativo ($p > 0,05$), indicando que a suposição de normalidade para os resíduos das percentagens de plântulas normais, obtidas com a metodologia rolo de papel mais vermiculita, foi satisfeita em todos os níveis examinados. Além disso, observou-se que a ANOVA foi significativa para os laboratórios, levando à aplicação do Teste de Levene a fim de avaliar a homogeneidade das variâncias.

N teste de Levene ($p < 0,01$) foram constatadas variabilidades entre os laboratórios em cada amostra investigada (Tabela 8), entretanto, essa variação não resultou na rejeição da hipótese de igualdade de variâncias, possibilitando assim a continuidade das análises (Tabela 8). Essa decisão é

relevante para minimizar o risco de considerar erroneamente que um laboratório esteja divergente do padrão quando, na verdade, não está.

Os resultados de amplitude de cada laboratório (Lr_{jl}) e de cada repetição de sementes (Lr_{jk}), associadas aos limites críticos e graus de confiança de 99%, evidenciaram repetibilidade aceitáveis para todos os laboratórios e amostras (Figura 3), também observado para reprodutibilidade (Figura 4). Tanto para repetibilidade (Figura 3) quanto reprodutibilidade (Figura 4), observou-se alteração no limite crítico e da variabilidade de repetibilidade e reprodutibilidade em função dos laboratórios e das amostras, porém todos os valores ficaram abaixo do limite crítico indicando repetibilidade e reprodutibilidade do teste RP+V para análise de sementes de soja.

Resultados semelhantes de repetibilidade e reprodutibilidade foram descritos por Rocha et al. (2023) em um estudo de validação do teste de germinação com vermiculita para sementes tratadas de milho, assim como no estudo de França Silva et al. (2019) em relação a diferentes níveis de infestação de *Sitophilus zeamais* em de sementes de milho. As variâncias de repetibilidade e reprodutibilidade de cada amostra possuem valores diferentes, pois foram influenciadas pela combinação da qualidade inicial das sementes e dos ingredientes ativos no tratamento de sementes, já que lotes de menor qualidade frequentemente apresentam variabilidades mais amplas, a exemplo das amostras 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12. De maneira geral, uma menor variabilidade sugere maior confiabilidade nos resultados e melhores condições dos laboratórios para reproduzir e repetir a metodologia proposta (ISO 5725-2, 1994).

Através do gráfico dos valores de k para avaliação da precisão dos resultados, fica evidente a existência de diversos graus de variabilidade entre os laboratórios. Notavelmente, os laboratórios 3, 7, 8 e 12 em duas amostras, e os laboratórios 5 e 13 em uma amostra, destacadas na Figura 5, mostraram uma tendência em direção ao limite crítico de 1% (Figura 5). Isso sugere a presença de

um comportamento aleatório entre os laboratórios, que, por sua vez, não prejudica os resultados das amostras, indicando precisão dos mesmos.

Nota-se na Figura 6, um padrão aleatório com relação à superestimação e subestimação dos resultados, ao considerar a estatística h de Mandel. Nesse contexto, a média das amostras com acurácia foi de 58%. Destaca-se que os laboratórios 3, 4, 7, 8, 10 e 13 apresentaram mais de 45% dos resultados das amostras com valores de baixa acurácia.

Padrões semelhantes de precisão e acurácia de resultados entre laboratórios foram identificados por França Silva et al. (2019) e por Rocha et al. (2023) na validação do teste de germinação com vermiculita para sementes de milho tratadas. Esses autores observaram níveis de acurácia de resultados, com padrões aleatórios, o que também foi observado por Khajeh-Hosseini et al. (2018) na validação do método de tetrazólio como teste de vigor para sementes de soja.

Apesar dessas semelhanças, nas três validações mencionadas e também no presente estudo, constatou-se que os testes apresentaram repetibilidade dentro dos laboratórios e eram reprodutíveis entre diferentes laboratórios. Embora tenha ocorrido alguns dados com graus de precisão e acurácia que ultrapassaram os limites críticos estabelecidos, os resultados foram, de forma geral, consistentes e confiáveis.

A variação nas avaliações das plântulas normais pelos analistas pode estar associada à experiência individual em identificar características anormais causadas pela fitotoxidez, frequentemente resultante do tratamento com certos produtos i.a., assim como pelas condições e pelo tempo de transporte das amostras até os laboratórios. Diferenças substanciais nas respostas entre os analistas podem levar a resultados inconsistentes (Rocha et al., 2023).

É importante ressaltar que, embora tenha sido observada variação entre diferentes grupos (analistas e laboratórios) no teste de Levene, a homogeneidade das variâncias foi alcançada. Isso indica que as variações laboratoriais nas avaliações do teste de germinação usando a metodologia

RP+V são consideradas aceitáveis. Portanto, mesmo com variações aleatórias nos resultados entre os analistas, as condições de avaliação se mantêm dentro de níveis aceitáveis de consistência.

Devido à constatação de que a metodologia de germinação utilizando rolo de papel com adição de vermiculita apresentou consistência tanto em termos de repetibilidade quanto de reprodutibilidade em todos os laboratórios testados, ela se estabelece como uma opção altamente viável para a avaliação da germinação de sementes de soja, no contexto atual de produção e controle de qualidade.

A utilização dessa metodologia facilita a avaliação de plântulas normais ao minimizar eventuais problemas de fitotoxicidade originados por possíveis excessos de concentração de ingredientes ativos de produtos fitossanitários de tratamento de sementes, comuns em outras metodologias, como rolo de papel. Isso é atribuído às propriedades do substrato vermiculita, que pode minimizar os potenciais efeitos fitotóxicos sobre o desenvolvimento das plântulas. Dessa forma, a análise e os resultados do teste tornam-se mais precisos e representativos das condições reais em campo, onde o solo desempenha essa função naturalmente. Rocha et al. (2020) também observaram resultados semelhantes ao analisar sementes de soja, analisadas com a metodologia RP+V.

Considerando o cenário atual do mercado de sementes, onde a grande maioria é comercializada com tratamento industrial (TSI), é de suma importância introduzir novas abordagens que aprimorem a análise de sementes. O controle de qualidade nesse campo deve acompanhar os progressos que vêm sendo implementados na indústria, a fim de atender às crescentes exigências por qualidade, tecnologia e inovação no mercado de sementes. Nesse sentido a metodologia proposta no trabalho é confiável.

No questionário de avaliação realizado junto a este estudo, alguns laboratórios relataram já empregar a metodologia de uso de vermiculita no rolo de papel como parte de seu controle de qualidade interno. Aqueles que ainda não adotam essa técnica indicaram a possibilidade de incorporá-la à sua rotina laboratorial.

Conclusões

Os limites críticos estabelecidos em 1% e 5% de precisão para plântulas normais avaliadas pela abordagem do rolo de papel com vermiculita são atendidos.

Os dados de plântulas normais de soja avaliadas com a metodologia de rolo de papel com vermiculita (RP+V) apresentam repetibilidade, reprodutibilidade, precisão e acurácia dentro dos parâmetros críticos de 1% e 5%.

A metodologia proposta RP+V é adequada e confiável para ser implementada de forma rotineira na avaliação de sementes de soja, sobretudo para as tratadas com produtos fitossanitários.

Referências

- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. *Experimentação Agrícola*. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa n. 45, de 17 de setembro de 2013. Anexo XXI – Padrões para produção e comercialização de sementes de milho*. <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/INN45de17desetembrode2013.pdf>
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para Análise de Sementes*. Ministério da Agricultura e Pecuária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p. https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf
- CARVALHO, E.R.; PENIDO, A.C.; ROCHA, D.K.; REIS, L.V.; SANTOS, S.F.; SANTOS, H.O. Physiological and enzymatic monitoring of treated seeds of cultivars soybean during storage. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 17, n. 3, p. e2077, 2022. <https://doi.org/10.5039/agraria.v17i3a2077>
- CARVALHO, E.R.; REIS, L.V.; ROCHA, D.K.; PENIDO, A.C.; MAVAIEIE, D.P.R.; FERREIRA, V.F. Incidence of fungal species in stored soybean seeds in relation to cooling before packing and to packing material. *Revista de Ciências Agrárias*, v.44, n.2-3, p.193-202, 2021. <https://doi.org/10.19084/rca.24610>
- CARVALHO, E.R.; ROCHA, D.K.; ANDRADE, D.B.D.; PIRES, R.M.D.O.; PENIDO, A.C.; REIS, L.V. Phytotoxicity in soybean seeds treated with phytosanitary products at different application times. *Journal of Seed Science*, v.42, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42237847>

FRANÇA-SILVA, F.; CARVALHO, M.L.M.; CARVALHO, G.A.; ANDRADE, D.B.; SOUZA, V.F.; MARQUES, E.R. Radiographic analysis to test maize seeds for the presence of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Seed Science and Technology*, v.47, n.3, p. 248-259, 2019. <https://doi.org/10.15258/sst.2019.47.3.02>

HOWELL, D.C. *Statistical methods for psychology*. Cengage Learning, ed. 8, 2012. 792 p.

HUBER, P.J. *Robust statistical procedures*. Society for Industrial and Applied Mathematics, ed. 2, 1996. 77p.

ISO. International Organization for Standardization. *Precision of Test Methods: ISO 5725-2*. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. Geneva: 1994.

ISTA. International Seed Testing Association. *Method validation for seed testing*. Bassersdorf, 2007.

ISTA. International Seed Testing Association. *Method validation process administration*. Bassersdorf, 2008.

KHAJEH-HOSSEINI, M.; GALLO, C.; WAGNER, M.H.; ILBI, H. Validation study for the addition of *Cicer arietinum* (Desi type) as a species to which the conductivity test for seed vigour can be applied to support Rules proposal C. 15.1. *International Seed Testing Association*. 13 p, 2018. https://repositorio.inta.gob.ar/bitstream/handle/20.500.12123/5492/INTA_CRSantaFe_EEAOliveros_Gallo_C_Validation_study_addition_Cicer_arietinum.pdf?sequence=1&isAllowed=y

KRZYŻANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B.; GOMES-JUNIOR, F.G.; NAKAGAWA, J. *Testes de vigor baseados em desempenho de plântulas*. In: KRZYŻANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B.; MARCOS-FILHO, J. *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, p.89-132. 2020.

MANDEL, J. The validation of measurement through interlaboratory studies. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, v. 11, n. 2, p. 109-119, 1991. [https://doi.org/10.1016/0169-7439\(91\)80058-X](https://doi.org/10.1016/0169-7439(91)80058-X)

MARCOS-FILHO, J. *Testes de vigor baseados em desempenho de plântulas*. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B.; MARCOS-FILHO, J. *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, p.186-240, 2020.

MEDEIROS, J. C.; CARVALHO, E. R.; ANDRADE, D. B. D.; MORAES, L. F. D. S.; LIMA, J. M. E.; MASSA, M. A. F. Quality of corn seed industrial seed treatment (IST) and On-Farm treatment (OFT) in Brazilian agribusiness. *Journal of Seed Science*, v. 45, p. e202345017, 2023. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v45268856>

MORAES, L.F.D.S.; CARVALHO, E.R.; LIMA, J.M.E.; COSSA, N.H.D.S.; MEDEIROS, J.C. Physiological quality of corn seeds treated with insecticides and stored at different temperatures. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 57, p. 1–9, 2022. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2022.v57.02665>

OLIVEIRA, T.L.D.; PINHO, R.G.V.; SANTOS, H.O.D.; SILVA, K.M.D.J.; PEREIRA, E.D.M.; SOUZA, J.L.D. Biochemical changes and physiological quality of corn seeds subjected to different chemical treatments and storage times. *Journal of Seed Science*, v. 42, p. 1–15, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42234181>

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, 2022. <https://www.R-project.org/>

REIS, L.V.; CARVALHO, E.R.; REIS, V.U.V.; NARDELLI, A.C.P.; ANDRADE, D.B.D.; OLIVEIRA-JÚNIOR, A. Treatment technologies for soybean seeds: Dose effectiveness, mechanical damage and seed coating. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 47, p. e013622, 2023. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202347013622>

ROCHA, D.K.; CARVALHO, E.R.; PIRES, R.M.O.; SANTOS, H.O.; PENIDO, A.C.; ANDRADE, D.B. Does the substrate affect the germination of soybean seeds treated with phytosanitary products?. *Ciência e Agrotecnologia*, v.44, e020119, 2020. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044020119>

ROCHA, D.K.; CARVALHO, E.R.; LIMA, R.R.; PENIDO, A.C.; CARVALHO, M.L.M.; FERNANDES, N. Validation of the paper roll plus vermiculite (PR+V) germination test methodology for treated corn seeds. *Journal of Seed Science*, v.45, e202345026, 2023. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v45274506>

SANTOS, S.F.D.; CARVALHO, E.R.; ROCHA, D.K.; NASCIMENTO, R.M. Composition and volumes of slurry in soybean seeds treatment in the industry and physiological quality during storage. *Journal of Seed Science*, v. 40, p. 67-74, 2018. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n1185370>

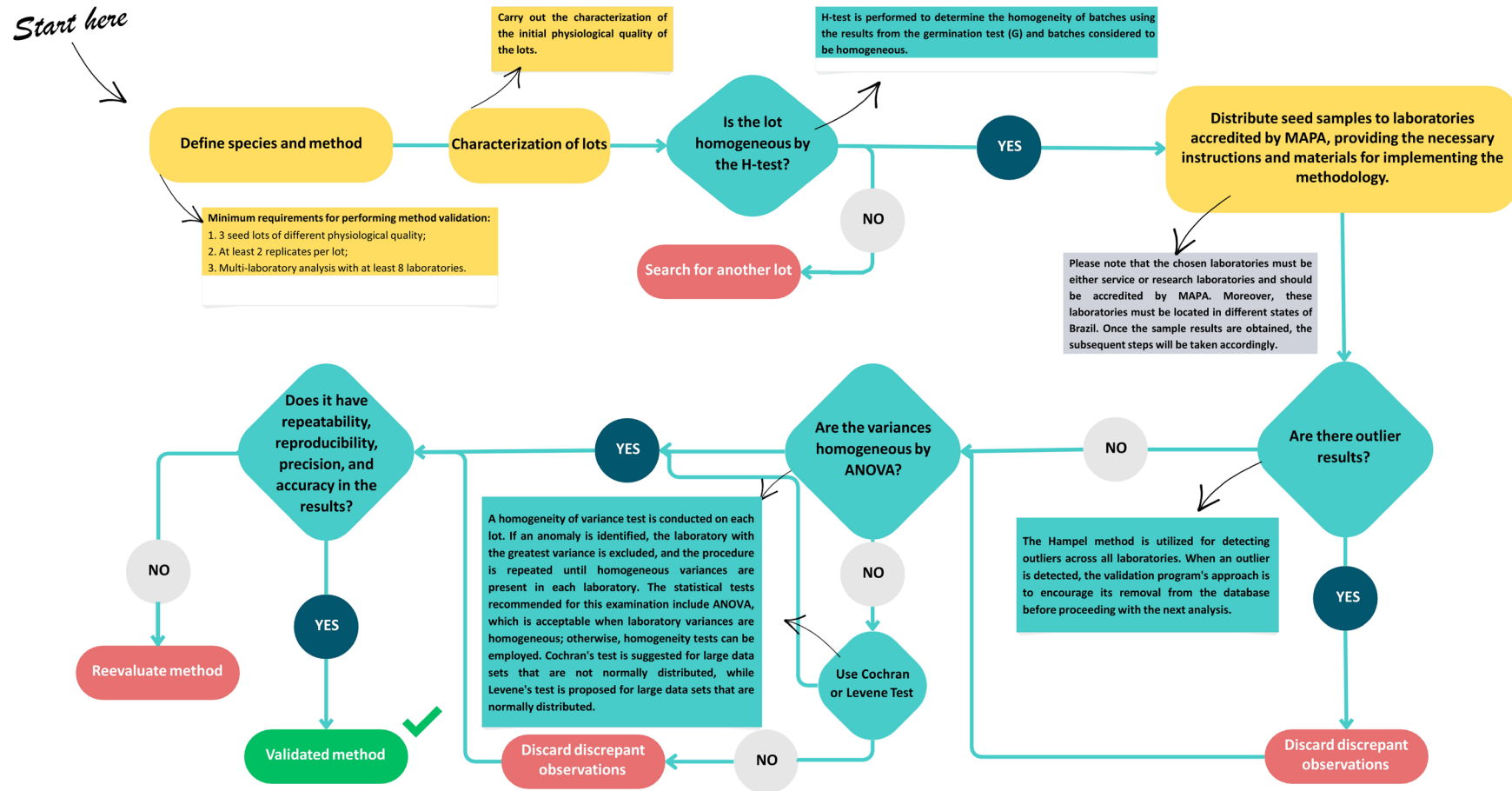
SANTOS, R.F.D.; PLACIDO, H.F.; LARA, L.M.; ZENI-NETO, H.; HENNING, F.A.; BRACCINI, A.L. Physiological potential of soybean seeds treated and stored under uncontrolled conditions. *Journal of Seed Science*, v.45, e202345005, 2023. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v45262942>

SUN, Y.; GENTON, M.G. Functional boxplots. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, v. 20, n. 2, p. 316-334, 2011. <https://doi.org/10.1198/jcgs.2011.09224>

TUKEY, J.W. *Exploratory data analysis*. ed. 1, 1977. 160p.

TUNES, C.D.; XAVIER, F.M.; BASILIO, V.B.; NEUMANN, A.M.; HARTWIG, I.; MENEGHELLO, G.E. Distinct levels of quality of treated soybean seeds evaluated in alternative substrates to the germination test. *Brazilian Journal of Development*, v.6, n.8, p.61623- 61635, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-547>

Chart for ISTA Method Validation for Seed Testing



Adapted by Reis, V. U. V. (2023)

Figura 1 – Organograma dos procedimentos resumidos de validação de metodologias para análise de sementes, adaptado da ISTA (2007).

Tabela 1 – Codificação e classificação quanto a sensibilidade ao tratamento fitossanitário dos lotes de sementes de soja.

Cultivares	Sensibilidade	Lote
Cultivar 1	Sensível	A
Cultivar 1	Sensível	B
Cultivar 2	Não Sensível	C
Cultivar 2	Não Sensível	D

Tabela 2 – Tratamentos de sementes industriais com inseticidas.

Produto comercial	Ingrediente ativo	mL*		
		Dose	Polímero	Volume de calda
Controle	-	0	100	200
Cruiser 350® FS + Fortenza 600® FS	Tiametoxam + Ciantraniliprole	200 + 60	100	460
Poncho® + Shelter®	Clotianidina + Fipronil	100 + 200	100	500
Cropstar®	Imidacloprido + Tiodicarbe	500	100	700

*Recomendação para 100 kg sementes.

Tabela 3 - Identificação dos materiais enviados para os Laboratórios (LAS).

Amostras	Lote	Tratamento de Sementes
1	A	Controle
2	A	Tiametoxam + ciantraniliprole
3	A	Clotianidina + fipronil
4	A	Imidacloprido + tiodicarbe
5	B	Controle
6	B	Tiametoxam + ciantraniliprole
7	B	Clotianidina + fipronil
8	B	Imidacloprido + tiodicarbe
9	C	Controle
10	C	Tiametoxam + ciantraniliprole
11	C	Clotianidina + fipronil
12	C	Imidacloprido + tiodicarbe
13	D	Controle
14	D	Tiametoxam + ciantraniliprole
15	D	Clotianidina + fipronil
16	D	Imidacloprido + tiodicarbe

Tabela 4 - Laboratórios credenciados pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), Brasil, participantes da validação do teste de germinação em rolo de papel mais vermiculita (RP+V) para sementes de soja.

Laboratório de Análise de Sementes	Cidade/Estado	Dias do envio até o início do teste
Agro Conecta Laboratório de Análises de Sementes e Diagnose de Plantas	Goiânia - GO	20
Agromen Sementes Agrícolas	Orlândia - SP	21
APROSMAT – Associação dos Produtores de Sementes de Mato Grosso	Rondonópolis - MT	25
Bayer CropScience LTDA	Uberlândia - MG	28
Laboratório de Análise de Sementes da Copercampos	Campos Novos - SC	19
Germinax - Análise e Certificação de Sementes	Formosa - GO	22
KWS Melhoramentos e Sementes LTDA	Patos de Minas - MG	27
Laboratório de Análise de Sementes e Mudanças da UFLA	Lavras - MG	18
Laboratório Oficial de Análise de Sementes – LASO-MG/LANAGRO/MAPA	Belo Horizonte - MG	18
Seedcare Institute Syngenta	Holambra - SP	5
Sementest - Laboratório de Análise de Sementes	Ibiporã - PR	22
Syngenta Seeds LTDA	Uberlândia - MG	27
Vigor Agro Análises	Campo Belo - MG	19

Tabela 5 - Resultados dos testes fisiológicos antes do tratamento adicional de sementes.

Lotes	PC	G	EA	EM
A	75 ab	82 a	65 a	91 a
B	69 b	74 a	34 c	84 ab
C	78 ab	78 a	32 c	76 b
D	83 a	86 a	57 b	90 a

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

PC: primeira contagem do teste de germinação em rolo de papel, G: germinação em rolo de papel, EA: teste de envelhecimento acelerado, EM: emergência de plântulas em condições controladas.

Tabela 6 - Resultados do teste H em diferentes lotes de soja.

Lotes	Valor H	Condição	Indicação
A	-0,6200	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
B	-0,8000	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
C	-0,4600	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
D	-0,7400	Variâncias homogêneas	Continuar a análise

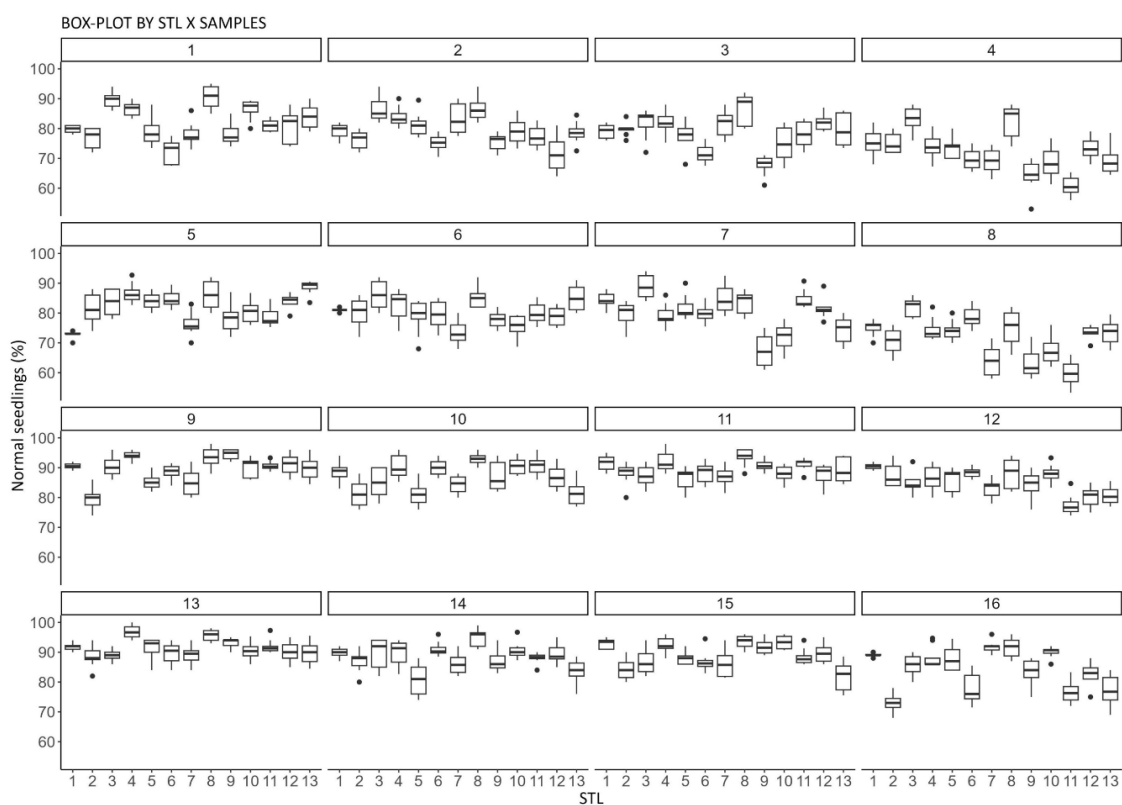


Figura 2 - Box-plots dos resultados do teste RP+V das sementes de soja tratadas e avaliadas por analistas de cada um dos 13 laboratórios de controle de qualidade (STL: seed testing laboratory), para as 16 amostras avaliadas.

Tabela 7 – Resultados da ANOVA em diferentes amostras e laboratórios.

FV	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F calculado	Valor p
Amostras (A)	15	55446	3696,4	256,78*	0,00*
LAS (L)	13	10137	844,8	58,68*	0,00*
A x L	180	23646	131,4	9,13*	0,00*
Resíduo	1454	20960	14,4	-	-

* Significativo a 1%.

Tabela 8 - Resultados do teste de Levene ($p < 0.01$), após a remoção de valores discrepantes pelo teste de Hampel, para detecção de valores discrepantes nas variâncias para cada amostra de sementes tratadas de soja.

Amostras	Valor P	Condição	Indicação
1	0,2565	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
2	0,2557	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
3	0,1658	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
4	0,8145	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
5	0,0728	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
6	0,0643	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
7	0,6253	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
8	0,1681	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
9	0,0201	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
10	0,2344	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
11	0,6788	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
12	0,2587	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
13	0,3250	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
14	0,2204	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
15	0,1793	Variâncias homogêneas	Continuar a análise
16	0.1086	Variâncias homogêneas	Continuar a análise

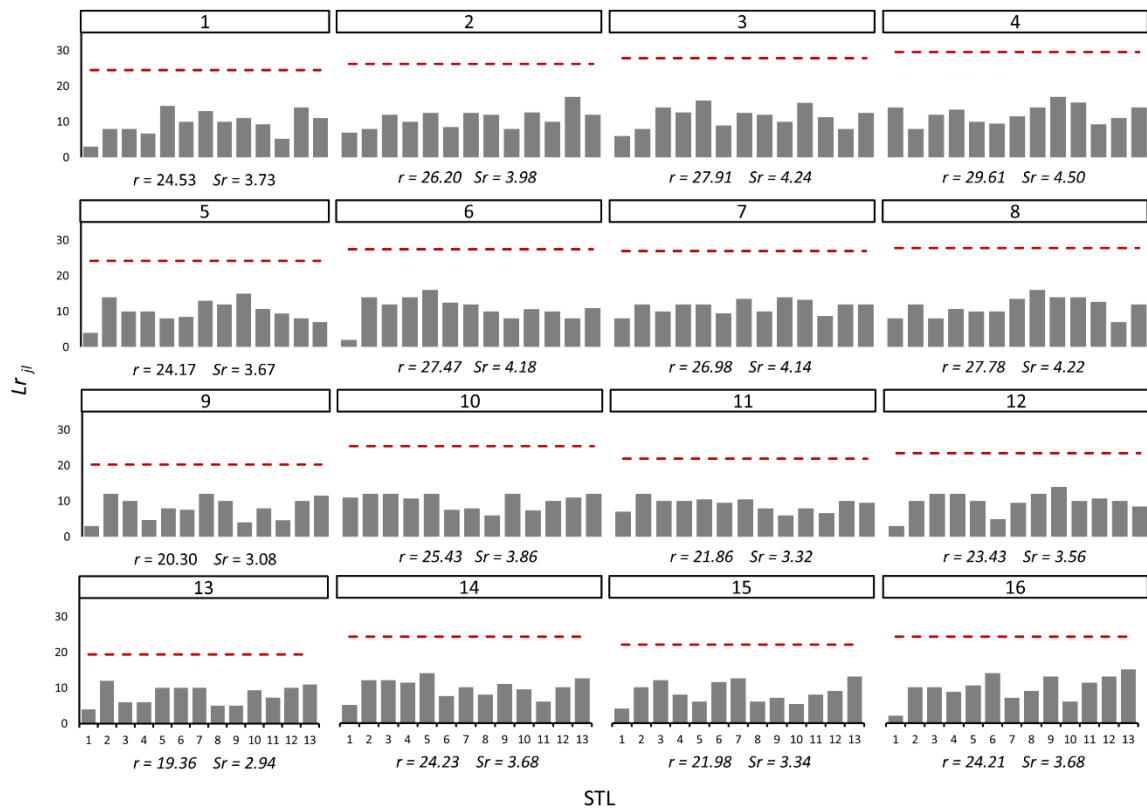


Figura 3 - Largura (Lr_{jl}), limite crítico (r) e desvio padrão de repetibilidade (Sr) para os 13 laboratórios (STL: seed testing laboratory) em cada amostra de análise de germinação em rolo de papel mais vermiculita (RP+V) para sementes tratadas de soja

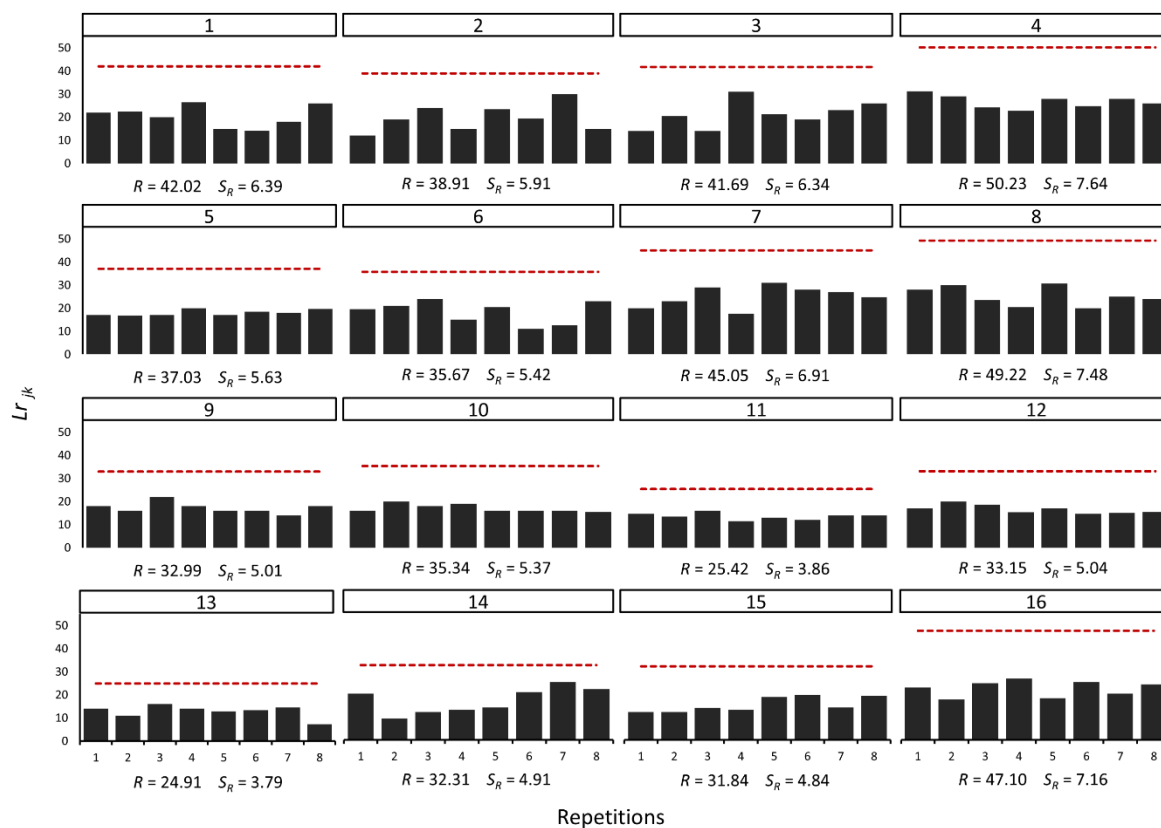


Figura 4 - Largura (Lr_{jk}), limite crítico (R) e desvio padrão de reprodutibilidade (S_R) para as 8 repetições em cada amostra de análise de germinação em rolo de papel mais vermiculita (RP+V) para sementes tratadas de soja

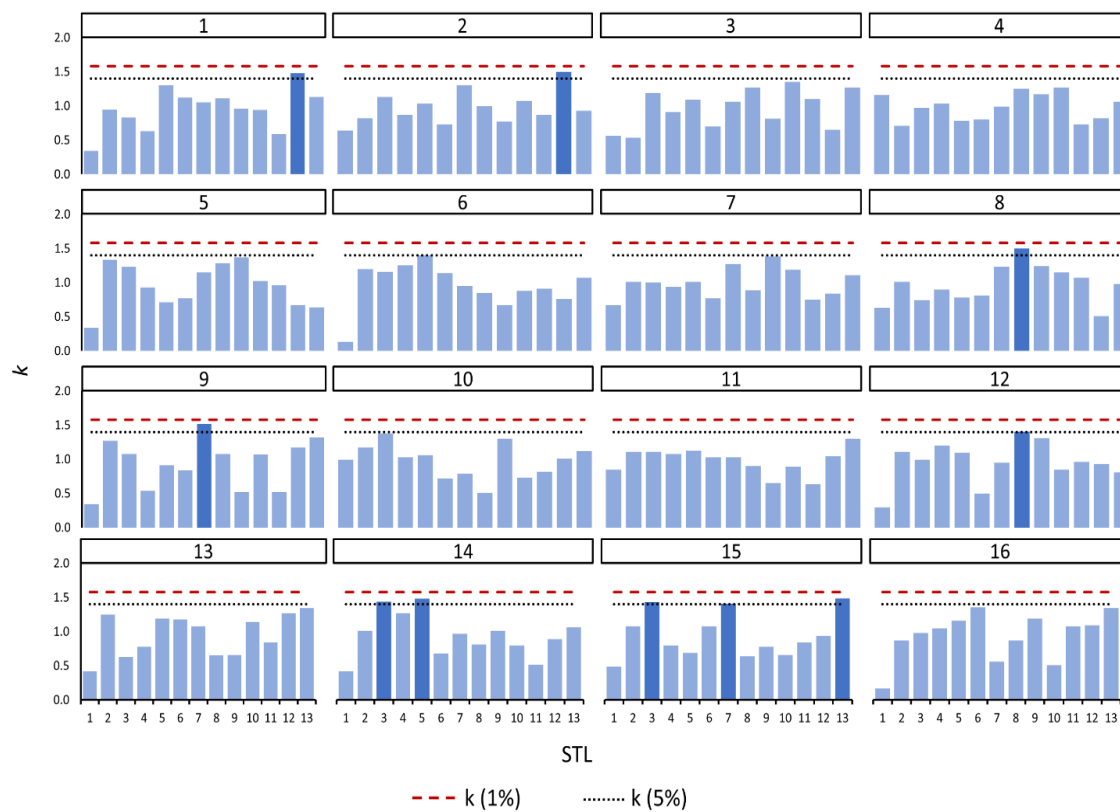


Figura 5 - Gráficos de valores de k para plântulas normais em sementes de soja tratadas realizada a partir do teste de germinação rolo de papel mais vermiculita (RP+V), para cada amostra nos 13 laboratórios (STL: seed testing laboratory).

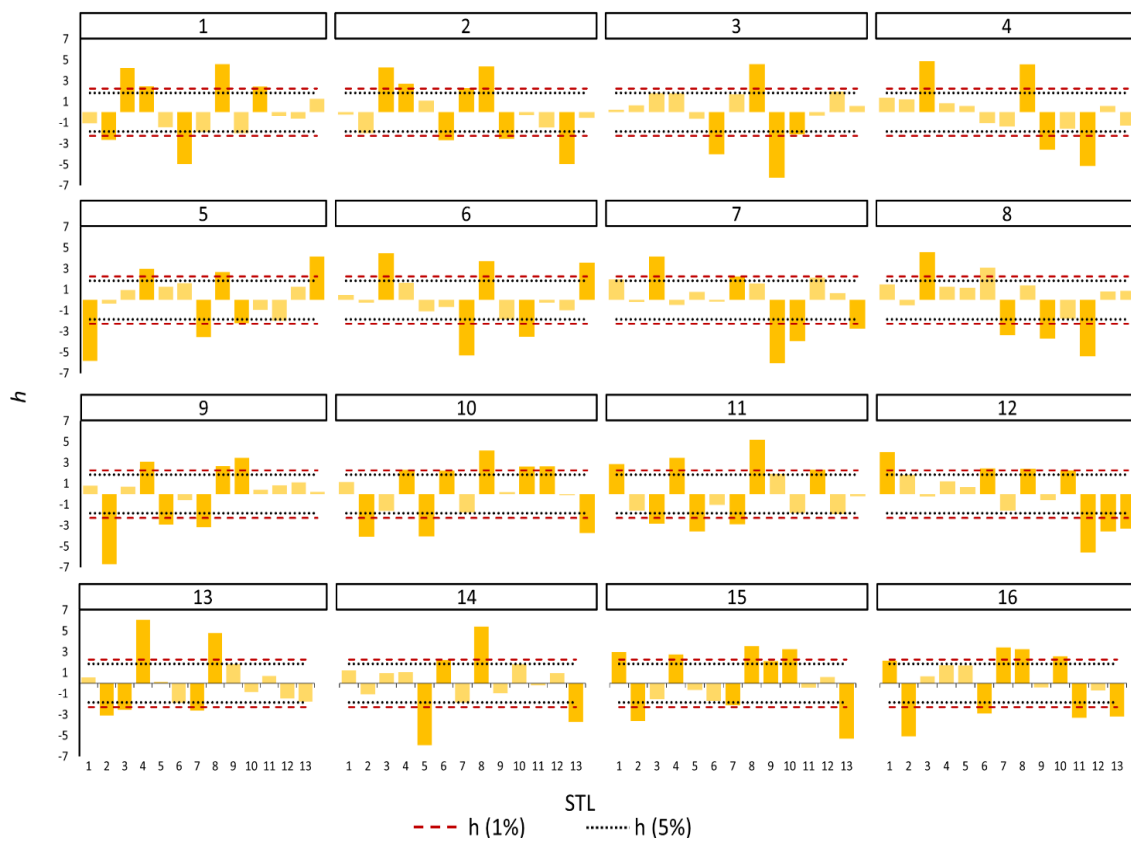


Figura 6 - Gráficos de valores de h para plântulas normais em sementes de soja tratadas realizada a partir do teste de germinação rolo de papel mais vermiculita (RP+V), para cada amostra nos 13 laboratórios (STL: seed testing laboratory).

TERCEIRA PARTE

1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho foi possível observar que os resultados de germinação de sementes de soja são afetados negativamente pelo tratamento com produtos fitossanitários inseticidas do grupo químico dos neonicotinoides, mesmo sem armazenamento, porém a intensidade é distinta em função do ingrediente ativo e do tipo de substrato utilizado. Os efeitos negativos nos resultados foram mais acentuados na metodologia RP, já na metodologia alternativa RP+V os efeitos foram menores.

Foi observado que a utilização da metodologia RP+V aumenta a velocidade de embebição, ao contrário da hipótese inicial e outros trabalhos publicados, e conseqüentemente o desenvolvimento inicial de plântulas e expressão da germinação em relação ao RP e EA, sustentando a possibilidade de reduzir a contagem final para 7 dias e assim facilitar a logística em laboratórios de rotina. Entretanto, futuramente é necessário realizar mais estudos para aprofundar e entender o real poder de adsorção dos produtos fitossanitários pela vermiculita durante o teste de germinação, principal hipótese para seus efeitos.

A utilização da metodologia RP+V favorece a expressão da germinação de sementes de soja em relação à RP e EA, independente da umidade do lote, quando não se utiliza o pré-condicionamento. Ou seja, na impossibilidade técnica ou logística de realização do pré-condicionamento para o teste de germinação, deve-se utilizar sempre a metodologia RP+V, pois a expressão da qualidade do lote tende a ser maior, porém somente o uso da metodologia RP+V não dispensa a necessidade de pré-condicionamento para sementes entre 12 e 8%. Os efeitos do pré-condicionamento foram mais intensos com sementes mais secas, abaixo ou igual a 10%, sobretudo nas metodologias RP e EA. Deve-se atentar a esse cenário pois é comum a ocorrência de lotes de sementes de soja com valores abaixo de 10% de umidade, em função da região de armazenamento de soja no Brasil e da época de análise.

Com todos estes benefícios e aplicabilidades da utilização da metodologia RP+V, foi possível avaliar e validar com técnicas estatísticas específicas a sua reprodutibilidade, repetibilidade e precisão entre diversos laboratórios credenciados de análises de sementes, ou seja, seu uso em escala nacional ou internacional é segura e confiável, tendo confiabilidade dos resultados entre os laboratórios. Dessa forma podendo ser

implementada de forma rotineira na avaliação de sementes de soja, sobretudo para as tratadas com produtos fitossanitários.

Essa validação da metodologia com RP+V, representa um avanço no controle de qualidade de sementes de soja, visto que, atualmente grande parte do mercado é de sementes analisadas e comercializadas com produtos fitossanitários e com baixa umidade, esta metodologia se torna mais uma opção para que as avaliações fisiológicas de sementes em laboratório sejam representativas e seguras para o setor sementeiro. Ademais, com a validação desta metodologia há a possibilidade de inclusão na nova edição da RAS.

Assim, diante do alto volume de lotes para realização de testes de germinação para a comercialização, a redução do tempo de germinação de sementes de soja, de forma confiável, utilizando esta técnica traria uma grande economia de tempo e facilidade logística dentro dos laboratórios de rotina, pois possibilita a montagem e leitura do teste em todos os dias úteis da semana. Além de entregar resultados com maior confiabilidade quanto a real qualidade do lote principalmente nesse cenário, de sementes com baixa umidade e tratadas com produtos fitossanitários.

Ficou evidente no trabalho como os fatores, umidade das sementes, produtos fitossanitários, procedimentos pré-germinação e substrato podem afetar diretamente na germinação de sementes de soja, por isso pesquisas para adequações, ajustes e desenvolvimento de novas metodologias de análise de qualidade são de extrema importância e devem estar em constante evolução.