

METODOLOGIA ALTERNATIVA PARA OS TESTES DE GERMINAÇÃO E VIGOR VISANDO SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA

Higor Silva Nogueira¹, Martha Freire da Silva², Lucas Barbosa de Castro Rosmaninho¹, Francisco Charles dos Santos Silva³, Felipe Lopes da Silva¹

¹Universidade Federal de Viçosa – UFV, Departamento de Agronomia. Avenida Ph Rolfs s/n, CEP: 36870-900, Viçosa, MG. Email: higor.sn00@gmail.com, lucasbcrosmaninho@hotmail.com, felipe.silva@ufv.br

²Universidade Estadual de Maringá – UEM, Departamento de Ciências Agronômicas, Campus de Umuarama. Estrada da Paca s/n, CEP: 87500-000, Bairro São Cristóvão, Umuarama, PR. E-mail: marthafreire86@hotmail.com

³Universidade Estadual do Maranhão/UEMA – Campus Balsas - Curso de Agronomia. Praça Gonçalves Dias s/n, CEP 65800-000, Balsas, MA. E-mail:fcsantossilva-ma@hotmail.com,

RESUMO: Este trabalho teve por objetivo avaliar uma metodologia alternativa para os testes de germinação e vigor para fins de seleção de genótipos visando qualidade fisiológica de sementes de soja. Para isso, utilizou-se sementes de três cultivares de soja e dois lotes de cada cultivar, totalizando seis tratamentos. O desempenho fisiológico dos lotes de sementes foi analisado pelos testes de germinação e vigor. Após, foi realizada a metodologia alternativa proposta, chamada de metodologia de mini-rolos. Realizou-se a semeadura de 15 sementes, semeadas entre duas folhas de papel, com a metade do tamanho do papel de germinação tradicional. Foram confeccionados mini-rolos de germinação, que foram alocados em béquers, contendo água ao fundo. Os béquers, contendo os mini-rolos foram mantidos em germinador, na temperatura de 25 °C, pelos tempos correspondentes para cada teste. Após este período, foram realizadas as avaliações de plântulas normais e de comprimento de plântulas. Para cada tratamento, foram realizadas 10 repetições. Foram estimados os coeficientes de repetibilidade (r) por meio dos métodos análise de variância, componentes principais e análise estrutural. Constatou-se que a metodologia alternativa permite a distinção de lotes de alto dos de baixo vigor, podendo ser uma alternativa para os programas de melhoramento.

PALAVRAS-CHAVE: *Glycine max* L. Merrill, qualidade fisiológica de sementes, teste de repetibilidade.

ALTERNATIVE METHODOLOGY FOR GERMINATION AND VIGOR TESTS FOR THE SELECTION OF SOYBEAN GENOTYPES

ABSTRACT: This work aimed to evaluate an alternative methodology for germination and vigor tests for the purpose of genotype selection aiming at the physiological quality of soybean seeds. For this, seeds from three soybean cultivars and two lots of each cultivar were used, totaling six treatments. The physiological performance of seed lots was analyzed by germination and vigor tests. Afterwards, the proposed alternative methodology, called mini-rolls methodology, was carried out. Fifteen seeds were sown between two sheets of paper, in a paper with a half the size of traditional germination paper. Mini-rolls of germination were made, which were placed in beakers, containing water at the bottom. The beakers containing the mini-rolls were kept in a germinator at a temperature of 25 °C for the corresponding times for each test. After this period, evaluations of normal seedlings and seedling length were carried out. For each treatment, 10 replications were

performed. The repeatability coefficients (r) were estimated using the analysis of variance, principal components and structural analysis methods. It was found that the alternative methodology allows the distinction of high from low vigor lots, and it can be an alternative for breeding programs.

KEY WORDS: *Glycine max* L. Merrill, physiological seed quality, repeatability test.

INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das principais culturas cultivadas no mundo. Por sua renomada importância mundial, a obtenção de altas produtividades na cultura têm sido cada vez mais requerida, sendo a qualidade fisiológica das sementes um dos principais fatores associados à alta produtividade. Desta forma, é imprescindível a utilização de testes de germinação e vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes e, cada vez mais importante, a proposição e ajuste desses métodos.

O teste de germinação é um teste requerido para a comercialização das sementes, sendo realizado seguindo metodologia padronizada, sob condições artificiais controladas em laboratório e altamente favoráveis para que as sementes expressem o seu máximo potencial fisiológico (Brasil, 2009). Por outro lado, os testes de vigor avaliam as propriedades das sementes que determina o potencial para emergência rápida e uniforme e para o desenvolvimento de plântulas normais sob uma ampla faixa de condições de campo (Krzyzanowski et al., 2020).

Vários testes têm sido recomendados para a avaliação do vigor de sementes de soja, destacando-se os de envelhecimento acelerado, crescimento e classificação do vigor de plântulas (Krzyzanowski et al., 2020). Os testes de germinação e vigor já foram preestabelecidos e já estão consolidados para a cultura da soja (Brasil, 2009; Krzyzanowski et al., 2020), sendo amplamente utilizados em laboratório de rotina de sementes, para avaliação do potencial fisiológico de lotes de sementes. No entanto, são testes que demandam tempo, mão de obra, recursos e grande número de sementes, o que os tornam inviáveis para serem aplicados dentro de programas de melhoramento para seleção de genótipos visando qualidade fisiológica de sementes.

Recentemente, a busca por caracteres relacionados à qualidade de sementes, para além do parâmetro de produtividade, tem sido de grande interesse para empresas de melhoramento. Entretanto, a adoção dos testes de germinação e vigor tais como são atualmente descritos, representa uma barreira para sua implementação. Em etapas iniciais do programa de melhoramento, são testadas milhares de linhagens e, na maior parte das vezes, pouca quantidade de sementes é

gerada nestas etapas. Adotar os testes de germinação de vigor para seleção visando qualidade de sementes, com protocolos descritos nos laboratórios de rotina, implica em alta demanda por sementes, o que é inviável nessas gerações.

Para tanto, é necessário que haja ajustes nos testes e proposição de novas metodologias para estes fins. Visando reduzir os gastos com *papel germitest* e utilizar menor número de sementes para estes testes, tornando-os viáveis para serem utilizados em programas de melhoramento, foi proposto, neste trabalho, uma metodologia alternativa, com utilização de mini-rolos, para os testes de germinação, envelhecimento acelerado e crescimento de plântulas. Assim, esse trabalho teve por objetivo verificar o potencial de uma nova metodologia alternativa para os testes de germinação e vigor para fins de seleção de genótipos visando qualidade fisiológica de sementes.

MATERIAL E METODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Genética da Soja, do Departamento de Agronomia, da Universidade Federal de Viçosa. Foram utilizadas sementes de três cultivares comerciais de soja, com dois lotes para cada cultivar, totalizando seis tratamentos. As sementes foram produzidas sob as mesmas condições, na cidade de Passo Fundo - RS, e os dois lotes obtidos de diferentes épocas de armazenamento. Os tratamentos foram denominados J-C1; J-C2; J-C3; M-C4; M-C5; M-C6, onde os precedidos pela letra J são os cultivares armazenados em janeiro e pela letra M os cultivares armazenados em maio do mesmo ano.

Inicialmente, as sementes foram tratadas com fungicida, produto comercial Maxim 100ml p.c/ 100kg de sementes, e foi realizada a caracterização dos lotes pelos testes de grau de umidade, germinação, condutividade elétrica, emergência em areia, envelhecimento acelerado e comprimento de plântulas, conforme procedimentos descritos a seguir.

Grau de Umidade (U) – Foi utilizado o método da estufa a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, com três repetições de 50 sementes (Brasil, 2009).

Teste de Germinação (G) – Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes. As sementes foram distribuídas entre três papéis *germitest*, previamente umedecidos com 2,5 vezes o peso do papel em volume de água. Foram confeccionados rolos contendo as sementes e estes acondicionados em câmara de germinação a 25°C por oito dias. A porcentagem de germinação foi calculada considerando as plântulas normais computadas no quinto e oitavo dia (Brasil, 2009).

Condutividade Elétrica (CE) - Quatro repetições de 50 sementes tiveram as massas mensuradas e acondicionadas em copos plásticos de 200 mL. Foram adicionados, aos copos plásticos, 75 mL de água deionizada, os quais foram mantidos em câmara de germinação, à temperatura de 25°C, por 24 horas (Krzyzanowski et al, 2020). Após este período, foram realizadas leituras em condutivímetro de eletrodo constante igual a 1,0. Os resultados foram expressos em $\text{mScm}^{-1}\text{g}^{-1}$.

Teste de Emergência (EM) - O teste de emergência foi realizado em casa de vegetação, sendo as sementes semeadas em substrato constituído por areia de textura média. O substrato foi umedecido considerando 80% da sua capacidade de retenção de água. Foram empregadas quatro repetições com 50 sementes por tratamento (Mertz et al., 2009). A porcentagem de emergência foi computada no oitavo dia após a semeadura, considerando-se as plântulas emergidas.

Envelhecimento Acelerado (EA) - Foram utilizadas caixas do tipo gerbox (11 x 11 x 3cm) contendo 40 mL de água destilada. As sementes de soja foram distribuídas em camada uniforme e única, sobre a tela que isola as mesmas do contato com a água. Tampadas, as caixas foram acondicionadas em câmara tipo BOD à 41°C por 48 horas (Krzyzanowski et al, 2020). Após este período, as sementes foram semeadas em papel sob duas folhas de papel germitest umedecidas na proporção 2,5 vezes o peso do papel e a porcentagem de plântulas normais foi mensurada após cinco dias da semeadura (Brasil, 2009). Utilizou-se quatro repetições de 50 sementes por tratamento.

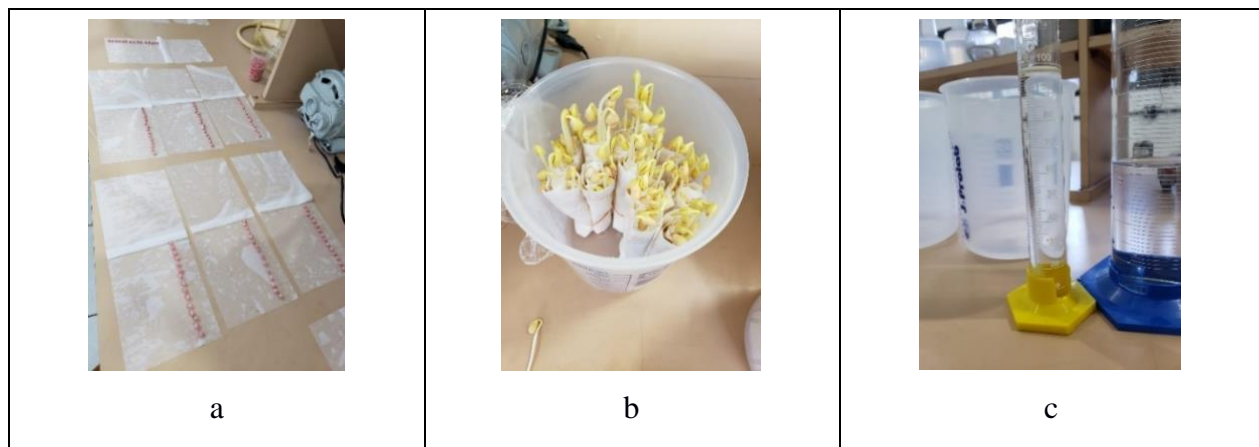
Comprimento De Plântulas (CP) - Para o teste de comprimento de plântulas, 20 sementes foram colocadas em um arranjo linear no terço superior do papel toalha (Germitest®). Foram confeccionados rolos com os papeis e as sementes e estes mantidos sob temperatura de 25 °C por três dias. Após esse período, as plântulas foram escaneadas, com auxílio do scanner HP Scanjet 2004 e o comprimento da parte aérea e da raiz foram mensurados por meio do software Vigor-S. Por meio deste teste foi obtido o comprimento total das plântulas (CP), obtido pelo somatório do comprimento da raiz e parte aérea, e o índice de vigor (VG), obtido conforme proposto por (Sako, 2001)

Após a caracterização dos lotes, foi realizada a metodologia alternativa para os testes de germinação, envelhecimento acelerado e comprimento de plântulas, que foram executados de acordo com as metodologias tradicionais de Brasil (2009) e Krzyzanowski et al (2020)., porém

com ajuste no número de sementes, repetições, tamanho e quantidade de papel germitest a ser utilizado, conforme descrito a seguir:

Metodologia Alternativa: Mini-Rolos Em Becker Com Lâmina D'água - Esta metodologia propõe o uso de menor número de sementes e menor quantidade de papel *germitest* para a realização dos testes de germinação, envelhecimento acelerado e comprimento de plântulas.

Para a execução destes testes, ao invés da utilização de 3 folhas de papel *germitest*, de tamanho 28x38 cm para cada repetição do tratamento, foram utilizadas duas folhas de metade do tamanho do papel original, ou seja, de dimensão 14x38 cm (a). Os papéis foram umedecidos na proporção 2,5 vezes o peso do papel e foram realizadas 10 repetições com 15 sementes para cada tratamento (b). Foram confeccionados mini-rolos e estes agrupados aleatoriamente em grupos de 4 (c). Os conjuntos de mini-rolos foram acondicionados em béqueres plásticos, de volume de 2L, contendo ao fundo uma lâmina d'água de 100 mililitros (para evitar reirrigação do papel) (d). Foram colocados 12 mini-rolos por béquer e estes foram vedados com filme plástico (e). Para evitar que faltasse oxigenação, foram realizadas pequenas perfurações no filme plástico. Os béqueres foram mantidos em germinador, na temperatura de 25 °C pelos tempos correspondentes para cada teste, conforme itens 2.2, 2.5 e 2.6. Após este período, foram realizadas as avaliações de plântulas normais e de comprimento de plântulas, utilizando-se o software Vigor S (f). Foi efetuada no quinto e oitavo dia a contagem das plântulas normais para o teste de germinação, a porcentagem de plântulas normais após cinco dias da semeadura para o teste de envelhecimento acelerado e mensurados o comprimento e índice de vigor após três dias da instalação do teste de comprimento de plântulas.



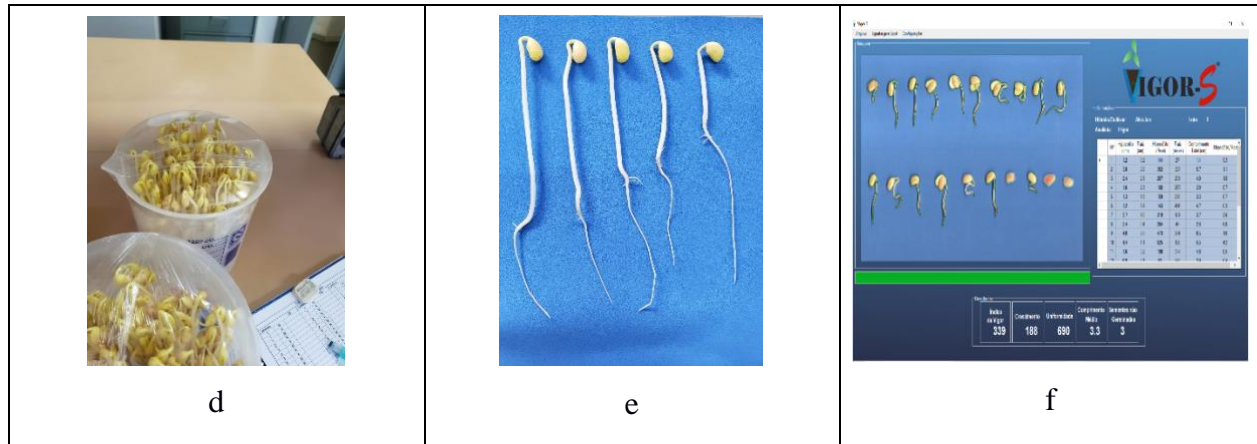


Figura 1 - Metodologia alternativa para os testes de germinação e vigor. a) Semeadura em papel *germitest* com menor dimensão (14x38 cm), utilizando-se 15 sementes por repetição. b) Confeção de mini-rolos, aleatorização e agrupamento de 12 mini-rolos por becker. c) Adição de 100 mililitros de água ao fundo do becker para evitar reirrigação. d) Vedação do becker com filme plástico, para evitar ressecamento dos rolos, e realização perfurações no filme plástico, para não permitir falta de oxigenação para as sementes. e) Padrão de plântulas normais a serem avaliadas nos testes de germinação e envelhecimento acelerado. f) Interface do Software Vigor S, que foi utilizado para a avaliação do comprimento de plântulas e índice de vigor.

Análise Estatística - Inicialmente, para comparar a qualidade das sementes nos diferentes tratamentos realizou-se a análise de variância, com o objetivo de classificar as sementes quanto a qualidade para os seis tratamentos. As variáveis que apresentaram diferenças significativas tiveram os tratamentos comparados pelo Teste Tukey a significância de 5%.

Para verificar a eficiência da metodologia alternativa (mini-rola), frente às metodologias padrão para o teste de germinação, envelhecimento acelerado e comprimento de plântulas, foi realizado o estudo de repetibilidade utilizando os caracteres em que foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos.

Os coeficientes de repetibilidade (r) foram estimados por meio dos métodos análise de variância (ANOVA); componentes principais com base nas matrizes de correlação [CP(correl)] e de variâncias e covariâncias fenotípicas [CP(cov)]; análise estrutural, com base nas matrizes de correlação intraclasses [AE(correl)] e de variâncias e covariâncias [AE(cov)]. O número mínimo de medições necessário para prever o valor real dos tratamentos, com base nos coeficientes de determinação (R^2) pré-estabelecidos (0,80, 0,85, 0,90, 0,95 e 0,99), foi obtido conforme metodologia descrita por (Cruz et al., 2004).

Com intuito de garantir maior confiabilidade aos resultados, as mesmas variáveis para as quais foram obtidas as estimativas de repetibilidade foram submetidas à análise de agrupamento pelo método de k-means (Samma e Salam, 2009). O agrupamento k-means é um método de Clustering não-hierárquico que objetiva particionar n observações dentre k grupos onde cada observação pertence ao grupo que possui média ou mediana mais próxima da sua (Alencar et al., 2013). Neste trabalho, foi adotado um k igual a 6, correspondendo ao número de tratamentos.

As análises estatísticas foram realizadas no Programa Genes: Biometria (Cruz, 2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância para a caracterização dos lotes quanto à qualidade fisiológica das sementes estão na Tabela 1.

Tabela 1 - Quadrado médio de tratamento (QMT), média e coeficiente de variação das variáveis: teor de água (TA), germinação (G), condutividade elétrica (CE), emergência de plântulas (EM), de envelhecimento acelerado (EA), comprimento total (CP) e vigor (VG), obtidas em seis tratamentos avaliados pelas metodologias da Regra de Análise de Sementes.

	TA	G	CE	EM	EA	CP	VG
QMT	0,133257 ^{ns}	0,33639**	1988,12**	0,177707**	0,4992**	10,1377**	19503,2**
Média	10,494	0,5467	88,1772	0,6517	0,3850	3,9603	350,0329
CV%	1,79	10,44	7,24	23,69	15,89	16,82	14,82

** , ^{ns} Significativo a 1% de probabilidade e não significativo respectivamente, pelo teste F.

Houve diferença na qualidade fisiológica dos lotes de sementes, conforme evidenciado para as variáveis G, CE, EM, EA, CP e VG. Por outro lado, evidenciou-se que não teve diferença significativa na umidade entre os lotes de sementes (Tabela 1), sendo que todos apresentaram cerca de 12% de umidade.

A uniformidade no teor de água das sementes é requerida quando se deseja comparar o desempenho fisiológico de lotes de sementes, pois ela é um dos fatores que mais afeta o seu metabolismo (Raveneau et al., 2017). Comparar lotes com diferentes níveis de teor de água pode incorrer na obtenção de resultados errôneos. Desta forma, a não significância para essa característica, juntamente com o similar histórico de produção e armazenamento destas sementes, implica na possibilidade de comparar o desempenho das sementes destes lotes.

As sementes dos tratamentos J-C1 e M-C4 foram as que tiveram o melhor desempenho de germinação; J-C2, M-C5 e M-C6 apresentaram desempenho intermediário e as de J-C3 apresentaram a menor porcentagem de germinação dentre os lotes de sementes avaliados (Figura 2). A diferença de germinação entre os lotes de sementes já implica na diferença de vigor entre eles. No entanto, outros testes podem ser aplicados às sementes e possibilitar uma análise mais refinada, que permite melhor inferência sob o desempenho das plântulas a nível de campo. Dentre os testes mais utilizados para se inferir sob o vigor de sementes de soja, tem-se o teste de envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, emergência e comprimento de plântulas, sendo possível a obtenção de índice de vigor com os resultados de crescimento e uniformidade obtidos do teste de comprimento de plântulas (Silva et al., 2019). Os resultados destes dos testes de vigor podem ser evidenciados na Figura 2.

Após o teste de envelhecimento acelerado, as sementes de M-C4 e J-C1 apresentaram o melhor desempenho fisiológico e as de M-C6 e J-C3, o pior (Figura 2). O envelhecimento acelerado é um dos testes que mais se correlaciona com o desempenho das sementes em campo.

Os maiores valores de condutividade elétrica foram obtidos para as sementes de J-C3 e M-C6, enquanto os menores foram encontrados para J-C1 e M-C4 (Figura 2). O teste de condutividade elétrica mede a concentração de solutos exsudatos pelas sementes durante o processo de embebição, podendo-se inferir sob o grau de integridade das membranas celulares e, indiretamente, sob o vigor das sementes (Silva et al., 2014). Altos valores encontrados para este teste, implica em baixa velocidade de reorganização das membranas e, portanto, menor vigor das sementes (Silva et al., 2014). Assim, J-C3 e M-C6 foram os lotes que apresentaram pior qualidade fisiológica (Figura 2).

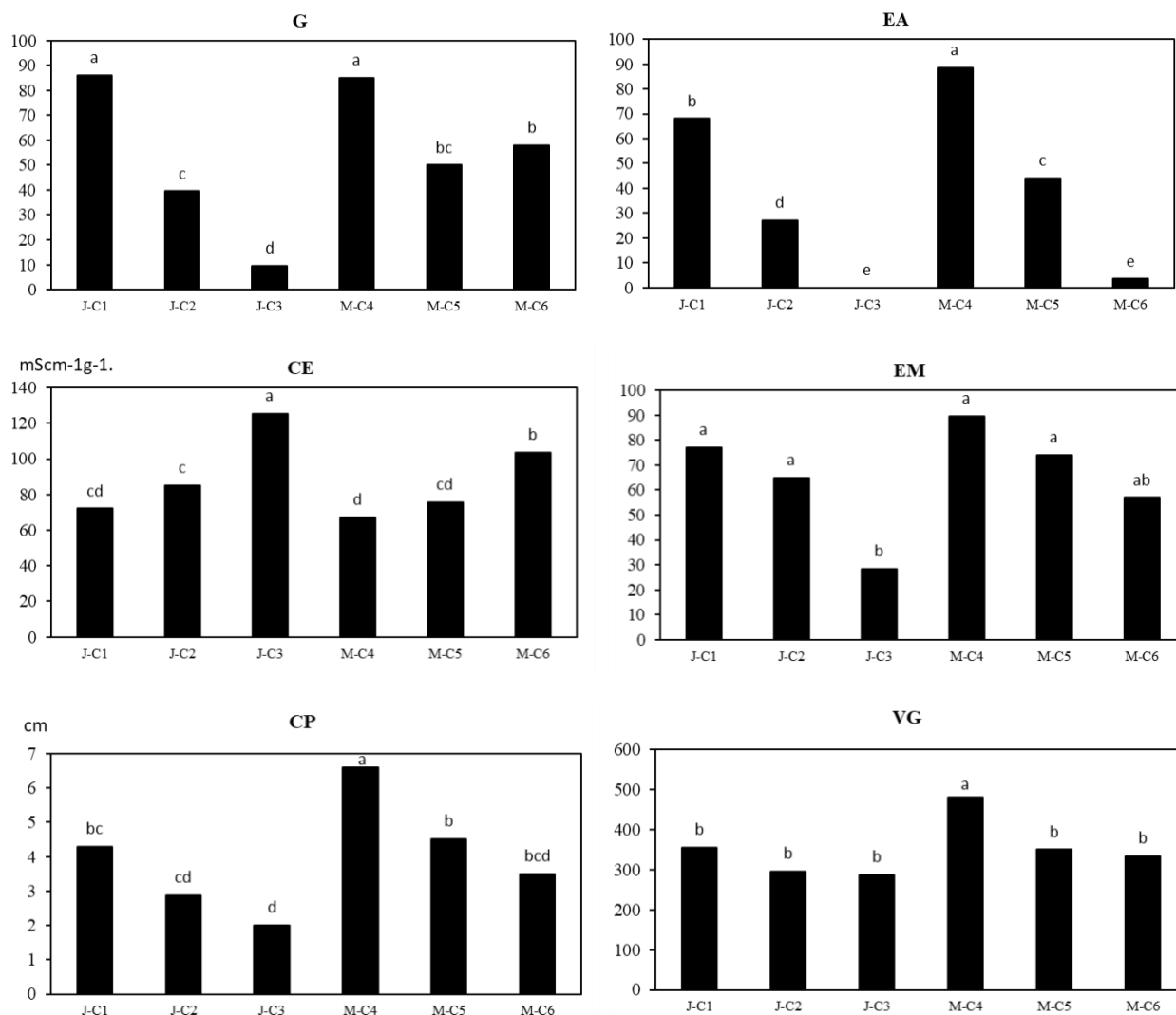


Figura 2 - Caracterização dos seis lotes de sementes de soja quanto à germinação (G), envelhecimento acelerado (EA), Condutividade elétrica (CE), emergência (EM), Comprimento de Plântulas (CP) e Vigor (VG). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Considerando o teste de emergência e o de comprimento de plântulas, as sementes de J-C3 e M-C6 também foram as que apresentaram pior desempenho fisiológico. Já para o índice de vigor, apenas as sementes de M-C4 apresentaram desempenho superior aos demais lotes. O índice de vigor é um índice proposto por Sako (2001) e leva em consideração em seu cálculo, o crescimento e a uniformidade das plântulas, obtidos por meio do teste de comprimento de plântulas. Quanto maior a taxa de crescimento e a uniformidade de plântulas maior é o índice e, portanto, maior o vigor das sementes (Sako, 2001).

Assim, evidenciou-se neste trabalho que os lotes J-C1 e M-C4 foram os que apresentavam maior qualidade; M-C5 e J-C2 nível intermediário e M-C6 e o J-C3, a menor qualidade fisiológica das sementes. Portanto, existem três níveis de vigor nos tratamentos utilizados: alto, médio e baixo.

Após a caracterização da qualidade fisiológica dos lotes das sementes, foi realizada a análise de variância para as variáveis germinação, envelhecimento acelerado, comprimento de plântulas e vigor, considerando os dados obtidos da metodologia alternativa (mini-rolos). Os resultados demonstraram que houve diferença entre os tratamentos para todas as variáveis analisadas (Tabela 2).

Tabela 2 - Quadrado médio de tratamento (QMT) e coeficiente de variação e acurácia experimental (\hat{r}) das variáveis: teor de água, germinação (G), condutividade elétrica (CE), emergência de plântulas (EM), de envelhecimento acelerado (EA), comprimento total (CP) e vigor (VG), obtidas em seis tratamentos avaliados pelas metodologias padrão e de Mini-Rolos

Metodologia Padrão de Avaliação Fisiológica de Sementes				
	EA	G	CP	VG
QMT	0,4992**	0,33639**	10,1377**	19.503,2**
\hat{r}	0,945	0,995	0,950	0,871
CV%	15,89	10,44	16,82	14,82
Metodologia Alternativa - Mini-Rolos				
	EA	G	CP	VG
QMT	1,2196**	0,6756**	15,4402**	4.5673,6893*
\hat{r}	0,997	0,985	0,940	0,762
CV%	24,74	28,83	42,47	51,11

**,* Significativo a 1 e a 5% de probabilidade respectivamente, pelo teste F.

Alguns parâmetros estatísticos têm sido recomendados para a avaliação da qualidade experimental, entre eles estão a acurácia (\hat{r}) (Resende, 2002), e o coeficiente de variação experimental, este último corresponde a um indicativo de precisão (Ramalho et al., 2000; Storck et al., 2000; Judice et al., 2002; Costa et al. 2002).

A metodologia de mini-rolos apresentou coeficiente de variação (CV%) de magnitude superior à metodologia padrão para todas as variáveis analisadas (Tabela 2). Entretanto as medidas de acurácia para metodologia alternativa, segundo a classificação de Resende (2002), variaram entre muito alta, superior 0,90, a alta, superior a 0,70.

Dessa forma, evidencia-se que a metodologia de alternativa apresenta precisão mediana e acurácia elevada na obtenção de dados relativos à qualidade de sementes de soja. Entretanto, outras análises devem ser consideradas para um julgamento mais acurado da viabilidade de uso da técnica.

Analisando de forma simultânea todas as variáveis relacionadas à qualidade de sementes de soja a técnica alternativa apresentou capacidade semelhante à metodologia padrão de separar os lotes de maior qualidade (J-C1 e M-C4), nível intermediário (M-C5 e J-C2) e menor qualidade fisiológica das sementes (M-C6 e J-C3), o que reforça a possibilidade do seu uso (Figura 3).

Observou-se que os maiores valores de coeficiente de repetibilidade e de determinação foram obtidos para germinação, envelhecimento acelerado e comprimento de plântulas, tanto para a metodologia tradicional, quanto para a alternativa, onde utilizou-se de mini-rolos com economia de papel *germitest* e de sementes (Tabela 3). Nota-se que os resultados encontrados para estes coeficientes na metodologia alternativa foram muito próximos aos obtidos na metodologia tradicional.

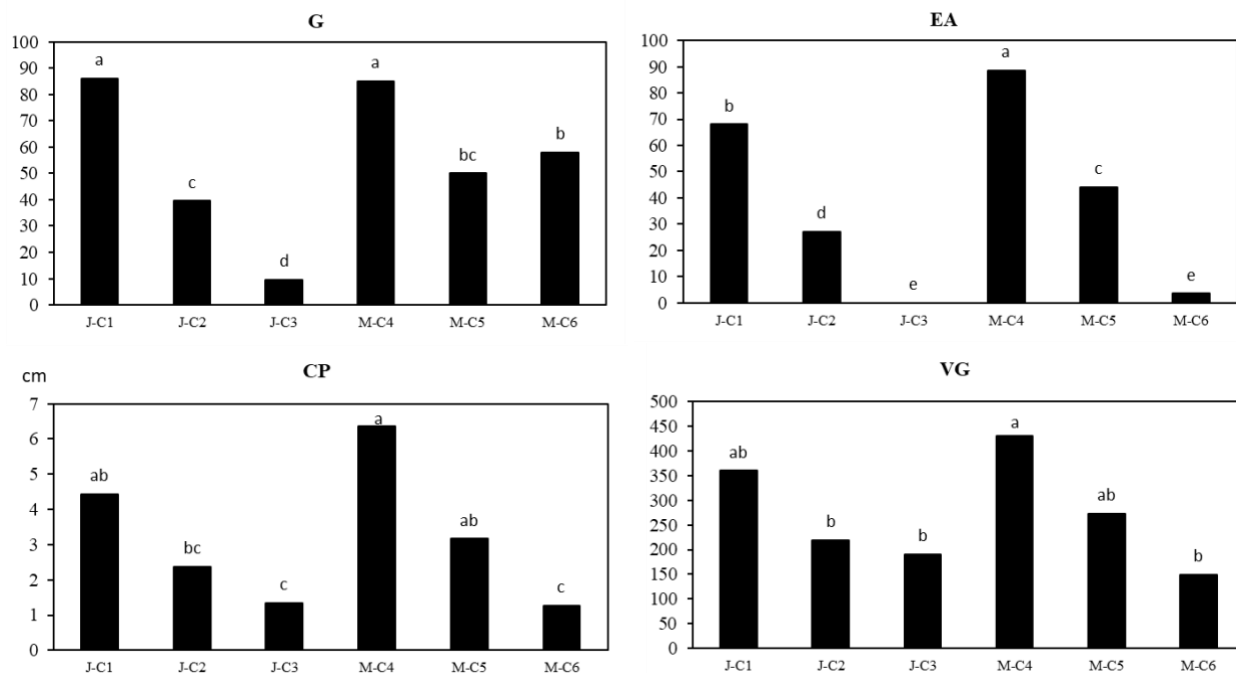


Figura 3 - Caracterização dos seis lotes de sementes de soja quanto à germinação (G), envelhecimento acelerado (EA), Comprimento de Plântulas (CP) e Vigor (VG), obtidas em seis tratamentos avaliados pela metodologia alternativa (Mini-Rolos). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os coeficientes de repetibilidade variaram de 0,9671 a 0,9708 (tabela 3) para a variável EA na metodologia padrão e para a metodologia dos mini-rolos os valores variaram de 0.9619 a 0.9686.

A magnitude dos coeficientes de determinação foram todos superiores a 99% para esta variável no método padrão e para os mini-rolos.

Quando analisamos a variável germinação, notamos que os coeficientes de repetibilidade variaram de 0,9619 a 0,9686 (Tabela 3), isso na metodologia padrão. Já na metodologia com os mini-rolos os valores variaram de 0,7682 a 0,7958. A magnitude dos coeficientes de determinação foram todas superiores a 99% na metodologia padrão e ficaram entre 97 e 97,5 na metodologia dos mini-rolos.

Na variável comprimento de plântulas, os coeficientes de repetibilidade variaram de 0,8321 a 0,8512 (Tabela 3) na metodologia padrão. Para a metodologia dos mini-rolos os valores variaram de 0,6572 a 0,7898. A magnitude dos coeficientes de determinação foram todos superiores a 95% para esta variável na metodologia tradicional e a 88% na metodologia dos mini-rolos.

Os menores valores encontrados para o índice de vigor, podem ser devido a este teste não ter sido muito eficiente para diferenciar o vigor dos lotes utilizados. Como observado, ele permitiu a distinção apenas do lote de maior vigor dos demais, enquanto todos os outros testes permitiram a classificação dos lotes em três níveis de vigor (Figura 2).

Para uma determinada característica, se a estimativa do coeficiente de repetibilidade obtida com a metodologia alternativa for próxima, igual ou superior à estimativa obtida pela metodologia padrão para o referido teste, evidencia que, para essa variável, a metodologia alternativa pode ser utilizada sem o risco de se obter resultados incorretos. Desta forma, os resultados mostram que a metodologia alternativa com os mini-rolos pode ser adotada para os testes de germinação, envelhecimento acelerado e comprimento de plântulas (Tabela 3).

O coeficiente de repetibilidade de uma característica corresponde à probabilidade de aquele resultado de repetir em avaliações futuras. Assim, é possível estimar o número de repetições necessárias de um determinado caráter, que devem ser realizadas para que a discriminação entre os tratamentos seja feita com certo grau de confiabilidade e com economia de tempo e de mão-de-obra (Cruz e Regazzi, 1997).

Neste trabalho, verifica-se que para se obter 95% de confiabilidade, pode-se utilizar de apenas uma repetição para a metodologia tradicional do teste de germinação e envelhecimento acelerado, enquanto para metodologia alternativa de mini-rola seriam necessários uma repetição para o envelhecimento acelerado e seis repetições para a germinação (Tabela 3). Para os testes de

comprimento de plântulas, 5 repetições, para a metodologia tradicional e 10 para a de mini-rolos e considerando o índice de vigor, 15 repetições para a metodologia tradicional e 44 para a alternativa.

Tabela 3 – Estimativas dos coeficientes de repetibilidade (r) e dos coeficientes de determinação [Det (%)] de diferentes características associadas à qualidade de sementes de soja, as quais foram quantificadas em seis tratamentos avaliados pelas metodologias tradicional e alternativa (Mini-Rolos).

Envelhecimento Acelerado				
	Metodologia Padrão		Mini-Rolo	
	r	Det (%)	r	Det (%)
ANOVA	0,9671	99,1578	0,9619	99,0183
CP (cov)	0,9708	99,253	0,9685	99,1942
CP (correl)	0,9699	99,231	0,9686	99,1973
AE (correl)	0,9699	99,2298	0,9686	99,1969
AE (cov)	0,9671	99,1578	0,9619	99,0183
Germinação				
	Metodologia Padrão		Mini-Rolo	
	r	Det (%)	r	Det (%)
ANOVA	0,9619	99,0183	0,7682	97,0715
CP (cov)	0,9685	99,1942	0,7958	97,4975
CP (correl)	0,9686	99,1973	0,7821	97,2892
AE (correl)	0,9686	99,1969	0,7809	97,2716
AE (cov)	0,9619	99,0183	0,7682	97,0715
Comprimento de Plântula				
	Metodologia Padrão		Mini-Rolo	
	r	Det (%)	r	Det (%)
ANOVA	0,8321	95,1969	0,6572	88,463
CP (cov)	0,8437	95,5722	0,7898	93,7609
CP (correl)	0,8512	95,8114	0,7014	90,3797
AE (correl)	0,8506	95,7946	0,686	89,7327
AE (cov)	0,8321	95,1969	0,6572	88,463
Vigor				
	Metodologia Padrão		Mini-Rolo	
	r	Det (%)	r	Det (%)
ANOVA	0,5729	84,2921	0,302	63,3736
CP (cov)	0,6371	87,5369	0,5455	82,7587
CP (correl)	0,5783	84,5803	0,3633	69,5378
AE (correl)	0,5711	84,1922	0,3028	63,4705
AE (cov)	0,5729	84,2921	0,3020	63,3736

Metodologias de estimação do coeficiente de repetibilidade (r): ANOVA: Análise de variância com um fator; CP (cov): Componentes principais obtidos da matriz de covariâncias; CP (correl): Componentes principais obtidos da matriz de correlação; AE (correl): Análise estrutural com base no autovalor teórico da matriz de correlações ou correlação média; e AE (cov): Análise estrutural com base no autovalor teórico da matriz de covariância.

Esses resultados demonstram a viabilidade da metodologia proposta para os testes de envelhecimento acelerado e comprimento de plântulas, uma vez que, a metodologia com mini-rolos conseguiu distinguir os tratamentos mais vigorosos e os menos vigorosos. Os com vigores intermediários ficaram bem próximos, apesar de não estarem agrupados juntos.

Outra justificativa para a utilização dos mini-rolos podemos citar a economia de materiais e mão de obra que se tem adotando essa metodologia para os testes de envelhecimento acelerado e comprimento de plântulas. Por exemplo, no teste de envelhecimento acelerado seria necessário apenas uma avaliação para ambos os métodos para se ter 95% de acurácia, no entanto, enquanto no mini-rolo seriam avaliadas apenas 15 sementes na metodologia tradicional seriam avaliadas 50.

Tabela 4 - Número de avaliações necessárias associada a diferentes coeficientes de determinação (R^2), estimado para diferentes características associadas à qualidade de sementes de soja, as quais foram quantificadas em seis tratamentos avaliados pelas metodologias da Regra de Análise de Sementes e de Mini-Rolos

R^2	ANOVA	CP (cov)	CP (correl)	AE (correl)	AE (cov)
Envelhecimento Acelerado – Tradicional					
0,8	0,136	0,12	0,124	0,124	0,136
0,85	0,193	0,171	0,176	0,176	0,193
0,9	0,306	0,271	0,279	0,279	0,306
0,95	0,646	0,572	0,589	0,59	0,646
0,99	3,364	2,981	3,069	3,074	3,364
Envelhecimento Acelerado – Mini-Rolo					
0,8	0,157	0,124	0,128	0,129	0,157
0,85	0,223	0,175	0,181	0,183	0,223
0,9	0,354	0,278	0,288	0,29	0,354
0,95	0,748	0,587	0,608	0,612	0,748
0,99	3,897	3,06	3,168	3,191	3,897
Germinação – Tradicional					
0,8	0,159	0,13	0,129	0,13	0,159
0,85	0,225	0,184	0,183	0,184	0,225
0,9	0,357	0,292	0,291	0,291	0,357
0,95	0,753	0,617	0,615	0,615	0,753
0,99	3,926	3,217	3,205	3,206	3,926
Germinação – Mini-Rolo					
0,8	1,207	1,027	1,115	1,122	1,207
0,85	1,71	1,454	1,579	1,589	1,71
0,9	2,715	2,31	2,508	2,524	2,715
0,95	5,732	4,877	5,294	5,329	5,732
0,99	29,867	25,411	27,584	27,769	29,867
Comprimento da Plântula – Tradicional					
0,8	0,807	0,741	0,699	0,702	0,807

0,85	1,144	1,05	0,991	0,995	1,144
0,9	1,816	1,668	1,574	1,58	1,816
0,95	3,834	3,521	3,323	3,336	3,834
0,99	19,98	18,346	17,312	17,384	19,98
Comprimento da Plântula – Mini-Rolo					
0,8	2,087	1,065	1,703	1,831	2,087
0,85	2,956	1,508	2,413	2,594	2,956
0,9	4,695	2,396	3,832	4,119	4,695
0,95	9,912	5,057	8,09	8,696	9,912
0,99	51,645	26,351	42,151	45,311	51,645
Vigor – Tradicional					
0,8	2,982	2,278	2,917	3,004	2,982
0,85	4,224	3,227	4,132	4,256	4,224
0,9	6,709	5,126	6,563	6,759	6,709
0,95	14,163	10,821	13,855	14,27	14,163
0,99	73,795	56,381	72,194	74,352	73,795
Vigor – Mini-rolo					
0,8	9,247	3,333	7,009	9,209	9,247
0,85	13,1	4,722	9,93	13,045	13,1
0,9	20,806	7,5	15,77	20,719	20,806
0,95	43,924	15,833	33,293	43,741	43,924
0,99	228,866	82,5	173,475	227,912	228,866

ANOVA: Análise de variância com um fator; CP (cov): Componentes principais obtidos da matriz de covariâncias; CP (correl): Componentes principais obtidos da matriz de correlação; AE (correl): Análise estrutural com base no autovalor teórico da matriz de correlações ou correlação média; e AE (cov): Análise estrutural com base no autovalor teórico da matriz de covariância.

Foi realizada, ainda, a análise de agrupamento considerando os dados obtidos da metodologia tradicional e alternativa (Figura 3). Dessa forma, se para um mesmo tratamento as informações obtidas pela metodologia de mini-rolos forem alocadas no mesmo grupo das obtidas pela metodologia tradicional, é um indicativo da eficiência do método alternativo, o que pôde ser observado para os tratamentos J-C1, M-C4 e J-C3 (Figura 3). Embora as sementes dos tratamentos J-C2, M-C5 e M-C6 das metodologias tradicional e alternativa não terem sido agrupadas no mesmo grupo, observa-se que permaneceram em agrupamentos próximos. Foi possível observar que o método mini-rolo permite a distinção tanto de lotes de alto vigor (J-C1 e M-C4), quanto de baixo vigor (J-C3) e que os lotes de vigor intermediário também apresentam similaridades de desempenho, tanto na metodologia tradicional como na alternativa.

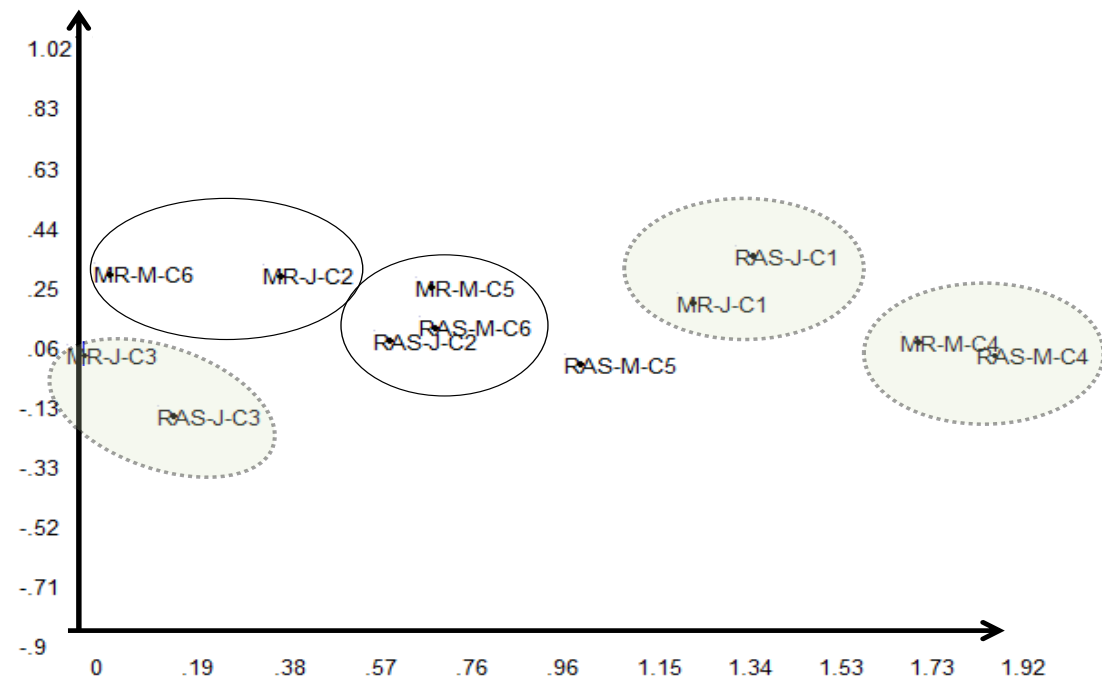


Figura 3. Análise de agrupamento pelo método K-means, com os dados obtidos do desempenho fisiológico das sementes dos seis lotes, na metodologia tradicional (denominação RAS) e alternativa (denominação MR).

Considerando os resultados apresentados podemos dizer que a metodologia alternativa se mostrou eficaz para a seleção de sementes com maior e menor qualidade fisiológica, além de aproximar bem os valores médios para as sementes de qualidade intermediária.

A metodologia alternativa dos mini-rolos também se mostrou eficaz para a realização dos testes de envelhecimento acelerado e comprimento de plântulas, uma vez que os resultados obtidos foram muito próximos aos obtidos pela metodologia padrão. Em adição a isso podemos destacar a economia de recursos nestes dois testes, que irá reduzir a demanda de sementes, papel *germitest* e consequentemente, mão de obra.

Portanto, a metodologia alternativa dos mini-rolos possui potencial para ser aplicada em um programa de melhoramento para fins de seleção de genótipos de soja visando a qualidade fisiológica de sementes.

CONCLUSÃO

O método alternativo proposto, utilizando-se mini-rolos, apresenta potencial para ser utilizado programas de melhoramento para fins de seleção de genótipos visando qualidade fisiológica de sementes, assim como a sua utilização para a os testes de envelhecimento acelerado

e comprimento de plântulas, nos quais propiciam economia de sementes, papel *germitest* e também de mão de obra.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, B. J. de; BARROSO, L. C.; ABREU, J. F. de. Análise Multivariada de Dados no Tratamento da Informação Espacial: uma abordagem com análise de Agrupamentos. **Revista Iberoamericana de Sistemas, Cibernética e Informática**, v. 10, n. 2, p. 6-12, 2013.

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

COSTA, N.H.A.D., J.C. SERAPHIN, & F.J.P. ZIMMERMANN. Nova proposta de classificação de coeficientes de variação para a cultura do arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 243-249, 2002.

CRUZ, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**. v.38, n.4, p.547-552, 2016.

CRUZ, C.D. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2004. 480p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2.ed. Viçosa: UFV, 1997. 390p.

JUDICE, M.G.; MUNIZ, J.A.; AQUINO, L.H.; BEARZOTI, E. Avaliação da precisão experimental em ensaios com bovinos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, p. 1035-1040, 2002.

KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; MARCOS FILHO, J.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020. 601p.

MERTZ, L.M.; HENNING, F.A.; ZIMMER, P.D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 13-18, 2009.

RAMALHO, M.A.P.; Ferreira; D.F.; Oliveira, A.C. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. UFLA: Lavras. 2000. 303 p.

RAVENEAU, M.; BENAMAR, A.; MACHEREL, D. Water content, adenylate kinase, and mitochondria drive adenylate balance in dehydrating and imbibing seeds. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 13, p. 3501-3512, 2017.

RESENDE, M.D.V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília. 2002. 975 p.

SAKO, Y.; MCDONALD, M.B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A.F.; BENNETT, M.A. A system for automated seed vigor assessment. **Seed Science and Technology**, v.29, n.3, p.625-636, 2001.

SAMMA, A.S.B.; SALAM, R.A. Adaptation of k-means algorithm for image segmentation. World Academy of Science, **Engineering and Technology**, v. 50, p. 58-62, 2009.

SILVA, L.J.; MEDEIROS, A.D.; OLIVEIRA, A.M.S. SeedCalc, a new automated R software tool for germination and seedling length data processing. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 2, p. 250-257, 2019.

SILVA, V. N.; ZAMBIASI, C. A.; TILLMANN, M. A. A.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F.A. Condução do teste de condutividade elétrica utilizando partes de sementes de feijão. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 2, p. 206-213, 2014.

STORCK, L.; GARCIA, D.C.; LOPES, S.J.; ESTEFANEL, V. **Experimentação vegetal**. UFSM, Santa Maria. 2000. 198p.