

QUALIDADE FISIOLÓGICA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE SEMENTES DE SOJA SUBMETIDAS AO ESTRESSE SALINO

PHYSIOLOGICAL QUALITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF SOYBEAN SEEDS UNDER SALT STRESS

BERTAGNOLLI, Carla M.¹; CUNHA, Cristina dos S. M.²; MENEZES, Sabrina M. de²;
MORAES, Dário M. de³; LOPES, Nei F.⁴; ABREU, Claudete M.⁵

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do estresse salino na qualidade fisiológica e composição química das sementes de soja. Sementes foram submetidas a pré-tratamento de uma hora em três concentrações: zero, 50 e 100 mM de NaCl. Avaliou-se a porcentagem de germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica (três e 24 horas), índice de velocidade de germinação, emergência, índice de velocidade de emergência, comprimento e massa seca de plântulas, atividade enzimática da fosfatase ácida e alfa-amilase aos zero, cinco e oito dias, amido, açúcar e proteína solúvel. A análise dos resultados permitiu concluir que o aumento da concentração salina ocasionou redução na germinação e vigor das sementes; os testes de envelhecimento acelerado e emergência não foram eficientes na avaliação do vigor das sementes sob estresse salino; a atividade enzimática foi influenciada apenas aos zero dias pelo estresse salino.

Palavras-chave: *Glycine max*, salinidade, vigor, atividade enzimática.

INTRODUÇÃO

Atualmente a cultura da soja é de grande importância econômica para o Brasil, dentre os problemas enfrentados destaca-se a dificuldade de estabelecimento adequado da cultura (BRACCINI et al., 1996), fato que exige a utilização de sementes de alta qualidade, de modo a permitir rápida emergência e desenvolvimento das plantas (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000; KRZYZANOWSKI et al., 1993).

A capacidade da semente germinar dentro de amplas condições é definida como manifestação de vigor, que depende, entre outros fatores, das condições ambientais encontradas no local onde foram semeadas (KHAN, 1976). No campo podem ser encontrados solos salinos, e a semente deverá ser vigorosa para que seja competitiva.

Muitos trabalhos foram feitos sobre os mecanismos de adaptação, referentes à fisiologia da resistência das plantas à salinidade (SILVA et al., 1992). O método mais difundido para a determinação da tolerância das plantas aos sais é a medida da porcentagem de germinação das sementes em substrato salino. A redução desta característica, quando comparada ao controle serve como um indicador do nível de tolerância à salinidade (KHAN, 1976). Da mesma forma que ocorrem alterações no processo germinativo e na manifestação do

vigor, também a sanidade pode afetar de alguma forma o metabolismo e a constituição química das sementes.

O início do processo de deterioração das sementes é manifestado pela perda do vigor. Várias enzimas, tais como, lipases, amilases, proteinases, desidrogenases e fosfatases apresentam redução de sua atividade em decorrência do decréscimo da qualidade fisiológica das sementes, (BEWLEY & BLACK, 1994). As mudanças na atividade enzimática, estão baseadas na suscetibilidade específica destas enzimas ao agente causador do estresse ou, estas alterações, são resultado de um único evento, por exemplo, ativação de proteases, as quais afetariam a função de várias enzimas (VIEIRA et al., 2000).

A α -amilase, enzima hidrolítica, é produzida pela camada de aleurona em resposta à ação das giberelinas, sendo liberada dentro do endosperma onde causa a conversão de amido em açúcares, utilizados no crescimento do embrião (ARTECA, 1995). Similarmente, a fosfatase ácida é uma enzima do tipo hidrolase, que atua no metabolismo de carboidratos e fosfatos, participando da mobilização de proteínas de reserva, principalmente durante a germinação e crescimento da plântula (BEWLEY & BLACK, 1994; GOMES et al., 2000).

As sementes são especialmente vulneráveis aos efeitos da salinidade, ocorrendo algumas alterações no metabolismo e até mesmo redução de vigor e potencial germinativo. Deste modo, este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a influência do estresse salino na qualidade fisiológica e constituição química de sementes de soja cv RS 10.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) e no Laboratório de Fisiologia de Sementes do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pelotas, no período de setembro a dezembro de 2002. Foram utilizadas sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) da cultivar RS 10.

Os tratamentos constituíram-se de três concentrações de sal (zero, 50 e 100 mM de NaCl). As sementes foram imersas por uma hora nas diferentes concentrações salinas, e a seguir realizaram-se os testes de germinação, vigor (exceto para o teste de envelhecimento acelerado) e constituição química.

¹ Engenheiro Agrônomo, Mestre, Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Sementes, Campus Universitário, Caixa Postal: 354 – CEP:96010-900 – Pelotas/RS – bolsista da CAPES – FAEM/UFPel. E-mail: carlabertagnolli@yahoo.com.br

² Engenheiro Agrônomo, Mestranda em Ciência e Tecnologia de Sementes – UFPel/FAEM, Pelotas/RS

³ Engenheiro Agrônomo, Doutor, Prof. Adjunto do Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS

⁴ Engenheiro Agrônomo, Ph.D, Prof. Titular do Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS

⁵ Bióloga, Mestre, Doutoranda em Agronomia, – UFPel/FAEM, Pelotas/RS

(Recebido para Publicação em 23/10/2003, Aprovado em 17/08/2004)

Teste de germinação (TG) – foi conduzido com quatro subamostras de 50 sementes, com três repetições por tratamento, utilizando como substrato rolos de papel germitest, previamente umedecidos com água destilada na quantidade de 2,5 vezes o seu peso inicial. Os rolos foram mantidos em germinador com temperatura constante de 25°C e as contagens feitas no quinto e oitavo dia após a semeadura (BRASIL, 1992); **primeira contagem de germinação (PCG)** – foi realizada em conjunto com o teste de germinação no quinto dia após a semeadura; **envelhecimento acelerado (EA)** – foram utilizadas 600 sementes de soja por tratamento, colocadas em caixas gerbox, sobre uma tela de aço inox, contendo 40 mL de água destilada para o controle, 40 mL de solução salina 50 e 100 mM de NaCl. As sementes foram mantidas em câmara BOD a 42°C e 100% de umidade relativa (MARCOS-FILHO, 1999). Após 48 horas, as sementes foram colocadas para germinar em rolos de papel germitest, sendo posteriormente feita a avaliação conforme as Regras para Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 1992); **condutividade elétrica (CE)** – foi realizada com quatro subamostras de 50 sementes por repetição, sendo as sementes aparentemente isentas de danos mecânicos, as quais foram pesadas e imersas em 75 mL de água deionizada a 25°C (VIEIRA & CARVALHO, 1994). Após três horas do início da embebição foi realizada a primeira leitura, e após vinte e quatro horas do início da embebição foi feita a segunda leitura em condutivímetro DIGIMED modelo DM-31, sendo o valor obtido, dividido pelo peso das sementes e os resultados expressos em $\mu\text{mhos g}^{-1}$ de semente de acordo com VIEIRA & CARVALHO (1994); **índice de velocidade de germinação (IVG)** – foi realizado com quatro subamostras de 50 sementes, por repetição dos tratamentos, sendo as avaliações feitas diariamente a partir da protusão da radícula, até o dia da última contagem estabelecido pelas RAS (KRZYŻANOWSKI et al., 1999). O IVG foi calculado de acordo com MAGUIRRE (1962) utilizando a seguinte fórmula: $IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$, onde G_n = número de sementes com protusão de raiz; N_n = número de dias da semeadura até as contagens; **emergência de plântulas (E)** – foi realizada em bandejas com areia esterilizada e umedecida com água na proporção de 60% de sua massa, sendo a semeadura feita manualmente a profundidade de 20 mm, utilizando-se 600 sementes em cada tratamento (três repetições de 200 sementes). A percentagem de emergência foi obtida com plântulas emergidas até o vigésimo primeiro dia após a semeadura; **índice de velocidade de emergência (IVE)** – utilizou-se a mesma instalação do teste de emergência das plântulas. Após o início da emergência, foram realizadas observações diárias, até que fosse obtida leitura constante sendo consideradas como emergidas as plântulas que apresentavam tamanho superior a 20 mm de parte aérea e o cálculo foi feito com a mesma fórmula descrita por MAGUIRRE (1962); **comprimento de planta (CP) e massa seca (MS)** – foram utilizadas quatro subamostras de 20 plantas instaladas em bandejas com areia esterilizada e umedecida com água na proporção de 60% de sua massa, sendo a semeadura feita manualmente a uma profundidade de 20 mm. Aos quatorze dias as plantas foram medidas com uma régua graduada em milímetros (mm), obtendo-se o comprimento total de planta. As mesmas foram colocadas em sacos de papel e permaneceram em estufa a 105°C por cinco dias, e posteriormente aferidas a massa com o auxílio de balança, com resultados expressos em mg planta^{-1} (KRZYŻANOWSKÝ et al., 1999); **atividade enzimática e conteúdo de reserva** - para a determinação da atividade enzimática as extrações foram feitas nos tempos zero, cinco e

oito dias após a semeadura, utilizando 0,5 g de sementes (tempo zero) e plântulas (aos 5 e 8 dias), em um gral com 20 mL de tampão acetato de potássio com pH 7,0. A mistura foi centrifugada a 3000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi retirado e colocado em tubos de ensaio e mantidos em geladeira a 4°C até a realização das análises de: a) fosfatase ácida (FAC) - quatro alíquotas foram separadas com 1 mL de extrato, sendo então adicionados 0,1 mL de penitrofenil por tubo de ensaio, e incubados a 30°C por 5 minutos; adicionou-se 1 mL de NaOH 0,5 N e 5,0 mL de água destilada sendo a leitura realizada em espectrofotômetro marca CELM, modelo E. 225 D a 400 nm conforme descrito pela ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (1965). Os resultados foram expressos em $\text{nmol min}^{-1} \text{g de sementes}^{-1}$. b) alfa-amilase (α -AMY) – o extrato foi colocado em banho-maria a 70°C durante 20 minutos, adicionando-se 0,1 mL da amostra por tubo completando o volume de 1 mL com tampão e 1 mL de solução de amido, permanecendo incubado a 30°C por 5 minutos. Após, foi adicionado 1 mL de lugol e 9 mL de água, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 620 nm (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, 1965). Os resultados foram expressos em $\mu\text{g de amido hidrolizado min}^{-1} \text{g de sementes}^{-1}$. Conteúdo de reservas da semente (AMIDO) – a 0,1 mL do extrato de cada tratamento foram adicionados 0,9 mL de água destilada e 3 mL de antrona; os tubos permaneceram em banho-maria 100°C por 3 minutos. A leitura foi feita a 620 nm, e os valores foram comparados com uma curva padrão de glicose. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g de amido g de sementes}^{-1}$; açúcar solúvel – para a determinação do açúcar solúvel as sementes permaneceram em estufa a 105°C por 48 horas e posteriormente moídas. 0,25 g de farinha foram adicionados a 20 mL de etanol 85%. As amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 3000 rpm. Ao volume de 0,1 mL do sobrenadante foi adicionado 0,9 mL de água destilada e 3 mL de antrona, colocou-se os tubos em banho-maria 100°C por 3 minutos; a leitura foi feita a 620 nm e os valores comparados com uma curva padrão de glicose. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g de açúcar solúvel g de sementes}^{-1}$; **proteína solúvel** - para a determinação da proteína solúvel, as sementes permaneceram em estufa a 105°C por 48 horas; posteriormente foram moídas. Utilizaram-se 0,25 g de farinha obtida na moagem, e adicionou-se 20 mL de KH_2PO_4 . As amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 3000 rpm. E adicionados 5 mL e Comassie Blue. A leitura foi feita a 595 nm e os valores comparados com a curva padrão obtida com BSA. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g de proteína solúvel g de sementes}^{-1}$.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com três repetições. Os dados expressos em percentagem foram transformados em $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$, e utilizados nas análises de variância. As comparações múltiplas entre as médias foram feitas pelo teste de Tukey ao nível de 1 e 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados indicaram que houve redução significativa ($P < 0,01$) na capacidade germinativa das sementes de soja com incremento na concentração de NaCl (Tabela 1), concordando com os resultados obtidos em soja por SANTOS et al. (1996) e BRACCINI et al. (1996).

Tabela 1 – Caracterização da qualidade fisiológica de sementes de soja (*Glycine max*) da cultivar RS10, pelos testes de germinação (TG), primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado (EA), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), massa seca (MS), comprimento de planta (CP) e condutividade elétrica (CE) submetidas a diferentes concentrações salinas

Concentração de NaCl (mM)	TG	PCG	EA	E	IVE	MS (g/plântula)	CP (mm)	CE ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	
	(%)							3 h	24 h
Zero	94,33a*	90,83a	49,08a	49,67 b	6,08a	0,61a	400,8a	20,89a	71,10a
50	86,17 b	82,67 b	32,67 c	59,14a	5,50a	0,54 b	309,4 b	44,12 b	96,88 b
100	83,17 c	78,00 b	41,42 b	38,50 c	4,24 b	0,50 c	304,3 b	73,56 c	125,44 c

*Médias seguidas por letras diferentes na coluna, diferem entre si, pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

Potenciais hídricos muito negativos, especialmente no início da embebição, reduzem a absorção de água pelas sementes, podendo inviabilizar a sequência de eventos do processo germinativo (BANSAL et al., 1980).

O índice de velocidade de germinação não foi influenciado significativamente pelos níveis de sal (dados não apresentados), apesar do potencial germinativo ter diferido para os mesmos níveis em estudo. Segundo BRADFORT (1986) e EIRA (1988), as sementes quando colocadas em contato com a solução aquosa, contendo algum soluto, iniciam a embebição de água normalmente, cessando este processo assim que entram em equilíbrio com o potencial osmótico da solução externa. Em potenciais osmóticos muito reduzidos a protusão da radícula é impedida. Uma possível explicação para este caso, é que o sal (NaCl) não tenha produzido potenciais hídricos suficientemente negativos capazes de impedir a expansão da raiz primária, mas suficientemente nocivos ao pleno desenvolvimento de plântulas normais. O mau desempenho da germinação na presença de sal deve-se à limitação na absorção de água que provoca uma carência de energia para desencadear os processos metabólicos da germinação (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1989).

A primeira contagem de germinação foi reduzida significativamente pela salinidade, porém não ocorrendo diferença estatística entre as concentrações de 50 e 100 mM de NaCl (Tabela 1). Em soja, SÁ (1987) e BRACCINI et al. (1996) obtiveram resultados semelhantes, atribuindo a redução no vigor, avaliado por meio do teste da primeira contagem de germinação, ao decréscimo do potencial hídrico causado pelo aumento na concentração salina. Em arroz, o sal produz retardo no processo germinativo, impossibilitando a primeira contagem aos sete dias, ou seja, no período normal para a cultura (CAMPOS & ASSUNÇÃO, 1990).

Para o teste de envelhecimento acelerado a concentração de zero mM apresentou os melhores resultados, sendo que a concentração de 100 mM obteve resultado superior a 50 mM (Tabela 1). A primeira vista poder-se-ia atribuir esta variação inesperada no comportamento do material ao baixo vigor inicial das sementes concordando com os resultados obtidos por BRADFORT (1986). Outro fator que possivelmente interferiu nos resultados foi o somatório de estresses a que a semente foi submetida, já que no teste de envelhecimento acelerado as sementes são condicionadas sob estresse que pode ser relacionado ao potencial fisiológico (MARCOS-FILHO, 1987).

Os resultados do teste de emergência de plântulas foram contraditórios, apesar de diferirem significativamente entre os tratamentos (Tabela 1). Os baixos índices de emergência podem ser explicados pelo baixo vigor das sementes, sendo que a concentração de 50 mM de NaCl apresentou maior porcentagem de plantas emersas do que as do controle e da concentração maior de 100 mM de NaCl, sinalizando que 50 mM de NaCl seja uma dose subletal para soja. Geralmente, os

resultados do teste de emergência mostram-se ligeiramente superiores ao teste de envelhecimento acelerado (48h-42°C), mostrando que este teste é eficiente para estimar a emergência de plântulas em campo (COSTA et al., 1984).

A análise do índice de velocidade de emergência, diferentemente da emergência que observa a formação de plantas normais ao final de 21 dias, avalia a emissão dos cotilédones inteiramente visíveis acima do solo (SANTOS et al., 1996). Os dados referentes ao índice de velocidade de emergência indicam que não houve diferença significativa entre o controle e a concentração de 50 mM (Tabela 1), semelhante ao ocorrido no índice de velocidade de germinação, (dados não apresentados) onde os tratamentos não diferiram significativamente entre si, novamente conduz a inferir que a dose de 50 mM de NaCl é subletal para soja. Provavelmente, a solução salina não produziu potenciais hídricos suficientemente negativos para evitar a protusão da radícula, concordando com BRADFORT (1986) e EIRA (1988) que afirmam que apenas potenciais hídricos suficientemente negativos inibem a protusão da radícula e o conseqüente desenvolvimento de plântulas normais.

Por outro lado, a concentração de 100 mM NaCl reduziu significativamente o índice de velocidade de emergência das plântulas de soja. Concentrações salinas causam limitações na absorção de água, provocando carência energética para desencadear os processos metabólicos da germinação (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1989), aliado ao fato da emergência ter sido realizada em substrato areia.

A massa seca das plântulas de soja diminuiu significativamente com o aumento da concentração salina (Tabela 1). O incremento da concentração salina produz efeitos adversos sobre a germinação e o vigor das sementes, acarretando redução da matéria seca das plântulas de soja (BRACCINI et al., 1996). Também, a restrição hídrica atua reduzindo a velocidade dos processos bioquímicos e fisiológicos, desse modo, as plântulas de soja sob déficit hídrico têm menor crescimento, reduzindo o comprimento e o acúmulo de massa seca da plântula (SÁ, 1987). Do mesmo modo, a matéria seca, o comprimento da raiz primária e o hipocótilo de diversos genótipos de soja sofrem redução progressiva com aumento da concentração da solução salina (SANTOS et al., 1996)

O comprimento da planta apresentou tendência semelhante à massa seca, onde os valores da testemunha foram significativamente maiores do que os tratamentos salinos que não diferiram entre si. Novamente, a presença de solução salina reduziu o crescimento das plântulas, estando de acordo com BRACCINI et al. (1996) e SANTOS et al. (1996).

Além do estresse salino afetar a embebição, a velocidade e a porcentagem de germinação, o primeiro efeito mensurável do decréscimo do potencial hídrico é a redução do

crescimento causada pela diminuição da expansão celular (KRAMER, 1974).

A condutividade elétrica aumentou significativamente com o incremento na concentração salina, tanto as três quanto às 24 horas de embebição (Tabela 1), mostrando que o sal pode produzir danos no sistema de membranas celulares. A capacidade de reorganização das membranas celulares e de reparar certo nível de dano é maior para sementes de mais alto vigor em comparação àquelas de baixo nível de vigor, consequentemente têm-se menores valores para a condutividade elétrica da solução de embebição de sementes de alto vigor comparadas àquelas de baixo vigor (AOSA, 1983).

Baseado nos resultados desta pesquisa pode ser inferido que a solução salina pode ter efeito danoso nas membranas celulares, ocasionando alterações na integridade das membranas. A integridade das membranas celulares é variável em função do grau de alterações bioquímicas deteriorativas e/ou danos físicos, podendo ser considerada a fundamental causa de alterações do nível de vigor das sementes, o qual pode ser indiretamente avaliado pela

determinação da condutividade elétrica na solução de embebição das sementes (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

Os dados médios referentes às atividades das enzimas Fosfatase Ácida (FAC) e alfa-amilase (α -AMY) são apresentados na Tabela 2. As atividades das enzimas FAC e α -AMY, determinadas ao zero dias, aumentaram com o incremento na concentração salina, mas sem diferença significativa entre o controle e a dosagem de 50 mM e entre esta e a dosagem de 100 mM, sugerindo que o estresse salino atuou moderadamente como ativador dessas enzimas. Entretanto segundo CAMPOS & ASSUNÇÃO (1990) os sais podem produzir inibição visível na síntese e/ou atividade de enzimas hidrolíticas necessárias à germinação.

A atividade da FAC, avaliada aos cinco dias foi significativamente maior sob estresse salino em relação ao controle, porém sem diferença estatística entre 50 e 100 mM de NaCl. Enquanto, as atividades da α -AMY, determinadas aos cinco e oito dias, e da FAC, avaliadas aos oito dias, não foram influenciadas pela concentração salina (Tabela 2).

Tabela 2 - Atividade das enzimas fosfatase ácida (FAC) e α -amilase (α -AMY), aos zero, cinco e oito dias após a semeadura de sementes de soja *Glycine max* (L.) Merrill da cultivar RS10 submetidas a diferentes concentrações salinas.

Concentração de NaCl (mM)	FAC (nmol ⁻¹ min ⁻¹ g de semente ⁻¹)			α -AMY (μ g min ⁻¹ g de semente ⁻¹)		
	Zero dias**	5 dias*	8 dias	Zero dias**	5 dias	8 dias
Zero	1852 b	2038 b	1681 a	385745 b	36020a	947534a
50	3728 ab	2937 a	2941 a	391369ab	42079a	938146a
100	4881a	3307 a	1428 a	396992a	34024a	954714a

*Médias seguidas por letras diferentes na coluna, diferem entre si, pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

**Médias seguidas por letras diferentes na coluna, diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em geral observou-se um decréscimo na atividade da FAC, ocorrendo o inverso para a α -AMY, onde os valores praticamente triplicaram no período estudado.

Os dados de conteúdo de reserva da semente (amido), açúcar e proteína solúveis não diferiram significativamente para as diferentes concentrações de NaCl (dados não apresentados).

CONCLUSÕES

Nas condições em que foi desenvolvida a presente pesquisa, conclui-se:

- O aumento da concentração salina ocasionou redução na germinação e vigor das sementes;
- os testes de envelhecimento acelerado e emergência não foram eficientes na avaliação do vigor das sementes sob estresse salino;
- a atividade enzimática é influenciada apenas aos zero dias pelo estresse salino.

ABSTRACT

This work was carried out in order to evaluate salt stress on physiological quality and chemical composition of soybean seeds. Seeds were submitted the treatment of one hours in three different concentration of 0, 50 and 100 mM of NaCl. The experiments were done to evaluate the seeds vigour through tests as following: percentage of germination, first counting of germination, electric

conductivity (three and 24h), index of germination speed, accelerated aging, emergency of seedlings, seedlings emergency speed, length and dry mass of shoot and root seedlings, total activity of the enzymes phosphatase acid and α -amylaze (0, 5 and 8 days), and chemical composition (starch, sugars and soluble protein). The results allowed to conclude that the increase of saline concentration caused reduction on germination and seed vigour. The tests such as accelerated aging and emergency of seedlings were not efficient to evaluate the seeds vigour under salt stress. The enzymes activities were affected by salt stress only on zero days.

Key words: Glycine max, salinity, vigour, enzyme activity.

REFERÊNCIAS

- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, **Official methods of analysis**. 10. ed. Washington: Editorial Board, 1965. 909p.
- AOSA - ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS, ed. **Seed vigor testing handbook**. Contrib. n. 32 to the Handbook on Seed Testing. 1983. 88p.
- ARTECA, R. N. **Plant growth substances: principles and applications**. Pennsylvania State University: Chapman & Hall, 1995. 332p.
- BANSAL, R.P.; BHATI, P.R.; SEM, D.N. Differential specificity in water inhibition of Indian arid zone. **Biologia Plantarum**, Copenhagen, v. 22, n. 5, p. 327-31, 1980.

- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BRACCINI, A.L.; RUIZ, H.A.; BRACCINI, M.C.L. et al. Germinação e vigor de sementes de soja sob estresses hídrico induzidos por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietilenoglicol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 18, n.1, p. 10-16, 1996.
- BRADFORD, K.J. Manipulation of seed water relation via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HortSciences**, Alexandria, v. 21, n. 5, p. 1105-112, 1986.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 1992. 365p.
- CAMPOS, I.S.; ASSUNÇÃO, M.V. Estresse salino e hídrico na germinação e vigor do arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 6, p. 857-862, 1990.
- CARVALHO N.M.; NAKAGAWA, J. **Semente: ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargil, 2000. 429p.
- COSTA, A.A.; SILVA, R.F.; SEDIYAMA, T. et al. Teste de lixiviação de solutos na avaliação da capacidade germinativa de sementes de soja. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 3, 1984, Londrina, **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 1984 p. 958-966.
- EIRA, M.T.S. **Condicionamento osmótico de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.): efeitos sobre a germinação e desempenho sob estresses hídrico, salino e térmico**. Piracicaba, 1988. 90p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luís de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- GOMES, M.S.; VON PINHO, E.V.R.; VON PINHO, R.G. et al. Efeito da heterose na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.7-17, 2000.
- KRAMER, P.J. Fifty years of progress in water relations research. **Plant Physiology**, Lancaster. v. 54, n. 4, p. 463-471, 1974.
- KHAN, A.A.; BRAUN, J.W.; TAO, K.L. et al. New methods for maintaining seed vigor and improving performance. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v.1, n.2, p. 33-57, 1976.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; GILIOLI, J.L.; MIRANDA, L.C. Produção de Sementes no Cerrado. In: ARANTES, N.E.; SOUZA, P.I.M. **Cultura da soja nos cerrados**. Uberaba: Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fósforo, 1993. 180p.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA R.D.; NETO J.B.F. **Vigor de Sementes: conceitos e testes**. Londrina, ABRATES, 1999. 218p.
- MAGUIRRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison. v.2, n.1, p.176-177, 1962.
- MARCOS-FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. da **Avaliação da qualidade da semente**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.
- MARCOS-FILHO, J. Teste do envelhecimento acelerado In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA R.D.; NETO J.B.F. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina, ABRATES: 1999. 218p.
- MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. New York: Pergamon Press, 1989. 270p.
- SÁ, M.E. **Relações entre qualidade fisiológica, disponibilidade hídrica e desempenho de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. Piracicaba, 1987. 90p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luís de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- SANTOS, V.L.M.; SILVA, R.F.; SEDIYAMA, T. et al. Utilização do estresse salino na avaliação da qualidade das sementes de genótipos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 18, n. 1, p. 63-72, 1996.
- SILVA, M.J. da ; SOUZA, J.G. de; BARREIRO NETO, M. et al. Seleção de três cultivares de algodoeiro para tolerância à germinação em condições salinas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 655-659, 1992.
- VIEIRA, A.R.; VIEIRA, M.das. G.G.C.; OLIVEIRA, J.A. et al. Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes dormentes de arroz armazenadas em diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 53-61, 2000.
- VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.
- VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste da condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA R.D.; NETO J.B.F. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina, ABRATES: 1999. 218p.