

QUALIDADE FISIOLÓGICA E SANITÁRIA, PRODUÇÃO DE ALDEÍDOS E CONTEÚDO DE LIPÍDIOS E PROTEÍNAS EM SEMENTES DA LINHAGEM UFV 91- 43-18 (SEM LIPOXIGENASES 2 E 3) E EM TRÊS CULTIVARES COMERCIAIS DE SOJA¹.

Dario A. Oliveira²
Carlos S. Sedyama³
Tuneo Sedyama³
Maurílio A. Moreira⁴
Valterley S. Rocha³

1. INTRODUÇÃO

Semente de boa qualidade fisiológica é fator primordial no estabelecimento da lavoura de soja. Aquelas com baixo potencial de germinação e vigor reduzido originam lavouras com pequena população de plantas, trazendo em consequência grande prejuízo econômico (11).

O critério comercial de avaliação da qualidade das sementes é geralmente baseado no teste de germinação conduzido em laboratório.

¹ Aceito para publicação em 02.07.1997. Parte da tese de M.S. do primeiro autor apresentada à UFV.

² BIOAGRO-UFV. 36571-000 Viçosa-MG (Bolsista da CAPES).

³ Dep. Fitotecnia, UFV, 36571-00 Viçosa-MG.

⁴ Dep. Bioquímica e Biologia Molecular, UFV, 36571-000 Viçosa-MG.

Embora os resultados nem sempre revelem diferenças na qualidade fisiológica entre lotes de sementes, as diferenças podem manifestar-se durante o armazenamento ou no campo. Conseqüentemente, têm sido desenvolvidos métodos mais adequados, como os testes de vigor, que têm a finalidade de determinar com maior precisão o índice de qualidade das sementes (12).

WILSON Jr. e McDONALD Jr. (23) propuseram um modelo hipotético em que considera a peroxidação de lipídios com produção de aldeídos e de outros produtos secundários uma das principais causas da deterioração das sementes.

A reação de oxidação de lipídios é acelerada pelas lipoxigenases (1), encontradas, na maioria dos cultivares comerciais de soja (2), na forma de três isoenzimas (LOX1, LOX2 e LOX3). Resultados de pesquisas têm evidenciado associação entre a produção de aldeídos liberados e a qualidade das sementes de soja (4, 13, 19, 20, 23).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica e sanitária; a produção de aldeídos e os teores de proteínas e lipídios em sementes de soja submetidas ao processo de retardamento de colheita no campo. Foram avaliados a linhagem UFV 91-43-18 (sem lipoxigenases 2 e 3) e os cultivares IAC-8, Savana e FT-Cristalina.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no campo experimental, no Laboratório de Análises de Sementes do Departamento de Fitotecnia e nos laboratórios do Núcleo de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais.

Utilizaram-se os cultivares FT-Cristalina, IAC-8 e Savana e a linhagem UFV 91-43-18, com ausência das isoenzimas lipoxigenases 2 e 3. Essa linhagem foi obtida no programa de melhoramento de soja da Universidade Federal de Viçosa. A colheita das plantas foi feita em quatro épocas diferentes e subseqüentes, com retardamento para induzir aumento da deterioração e diminuição da qualidade fisiológica das sementes. A primeira colheita foi realizada no estágio R8 da escala de FEHR e CAVINESS (7), quando as plantas se encontravam com 95% das vagens maduras. As demais colheitas foram feitas 10, 20, e 30 dias após a primeira. As sementes foram preparadas adequadamente para a realização dos testes de avaliação em laboratório.

Nos laboratórios, as sementes foram avaliadas pelo visual e quanto à qualidade fisiológica. A avaliação da qualidade fisiológica foi realizada por

meio dos testes-padrão de germinação e envelhecimento acelerado. Fez-se também o teste de sanidade de sementes, e foram determinados os níveis de hexanal e aldeídos totais e os teores de proteínas e lipídios.

A avaliação da qualidade visual da semente foi feita com base no aspecto geral do lote, considerando, em conjunto, grau de desenvolvimento das sementes, enrugamento, rachadura, cor e brilho do tegumento e lesões causadas por percevejos. Foram atribuídas notas de 1 a 5, considerando a parte fracionária, de acordo com a escala: 1, muito boa; 2, boa; 3, regular; 4, ruim; e 5, muito ruim. Os dados obtidos nesta avaliação não foram submetidos à análise de variância, por ter sido atribuída apenas uma nota por época de colheita.

A germinação foi avaliada pelo teste-padrão de germinação, conforme prescrito pelas Regras para Análise de Sementes (3), enquanto o vigor foi determinado pelo teste de envelhecimento acelerado. No teste de envelhecimento acelerado, 200 sementes foram acondicionadas em caixas "gerbox", suspensas e isoladas por uma malha metálica, com uma lâmina de água desmineralizada de 40 ml no fundo (100% de umidade relativa). Em seguida, foram colocadas em estufas incubadoras a 41°C e mantidas por 48 horas, conforme recomendação de KRZYZANOWSKI, *et alii* (10). Após esse período, quatro repetições de 50 sementes foram colocadas para germinar de acordo com o teste-padrão de germinação.

O teste de sanidade foi realizado empregando-se o método do papel-filtro "blotter test". As sementes utilizadas foram pré-tratadas em álcool, a 70%, e em hipoclorito de sódio, a 2%, durante um minuto e, em seguida, lavadas em água desmineralizada. As sementes foram distribuídas de maneira equidistante nas caixas "gerbox", sobre seis a oito folhas de papel-filtro autoclavado, embebido em solução de água desmineralizada e estreptomomicina a 100 ml por litro. Cada conjunto de quatro caixas "gerbox" (quatro repetições de 25 sementes) compôs um tratamento. As sementes foram incubadas em condição ambiental de laboratório, durante sete dias, segundo critérios adotados por HENNING e FRANÇA NETO (9). As temperaturas média e máxima local, durante esse período, foram de 22°C e 25°C, respectivamente. Após crescimento e esporulação dos patógenos internos, fez-se a identificação e determinou a percentagem de sementes infectadas por *Phomopsis* spp., bem como o total de fungos e bactérias.

Os níveis de hexanal foram determinados por cromatografia gasosa, pela técnica de espaço livre "head space". Os níveis de aldeídos totais foram estabelecidos conforme método colorimétrico desenvolvido por WILSON Jr. e McDONALD Jr. (22), com modificações sugeridas por REIS *et alii* (14) e SANTOS *et alii* (16). As análises foram realizadas em sementes pré-

germinadas por 24 horas, utilizando o 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (MBTH) como reagente de cor.

Os teores de proteínas foram estimados pelo método de Kjeldahl, que quantifica o nitrogênio total, e os teores de lipídios, determinados em extrator de Soxhlet, utilizando éter de petróleo como solvente, com refluxo, por 10 horas.

Analizou-se o experimento em fatorial, incluindo o estudo da interação entre os genótipos e épocas de colheita. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de regressão polinomial. Para as análises de variância, os dados percentuais foram transformados em $\sqrt{\% / 100}$, de acordo com GOMES (8).

Nas Figuras 1 e 2 são mostrados os dados climáticos referentes ao período entre 1º.04.94 e 30.06.94 no município de Viçosa-MG e a representação comparativa das épocas de colheita dos genótipos estudados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando a qualidade visual das sementes, a linhagem UFV 91-43-18 (sem LOX2 e 3) apresentou sementes com a melhor qualidade entre os genótipos estudados. Os cultivares IAC-8 e Savana tiveram comportamento intermediário, enquanto a FT-Cristalina apresentou a pior qualidade visual (Quadro 1), em razão principalmente da elevada porcentagem de sementes picadas por percevejo no campo.

QUADRO 1 - Qualidade visual atribuída às sementes dos materiais genéticos estudados em quatro épocas de colheita. Notas de 1 a 5 ¹					
Cultivar/Linhagem	Épocas de colheita				Média
	Dias após o estágio R8				
	0	10	20	30	
UFV 91-43-18	1,0	2,0	3,0	3,0	2,2
IAC - 8	1,5	2,5	3,0	3,5	2,6
Savana	1,5	2,0	3,0	3,5	2,5
FT-Cristalina	3,0	3,5	4,0	4,5	3,7
Média	1,7	2,5	3,2	3,6	

¹ Nota 1,0 = qualidade muito boa; 5,0 = qualidade muito ruim.

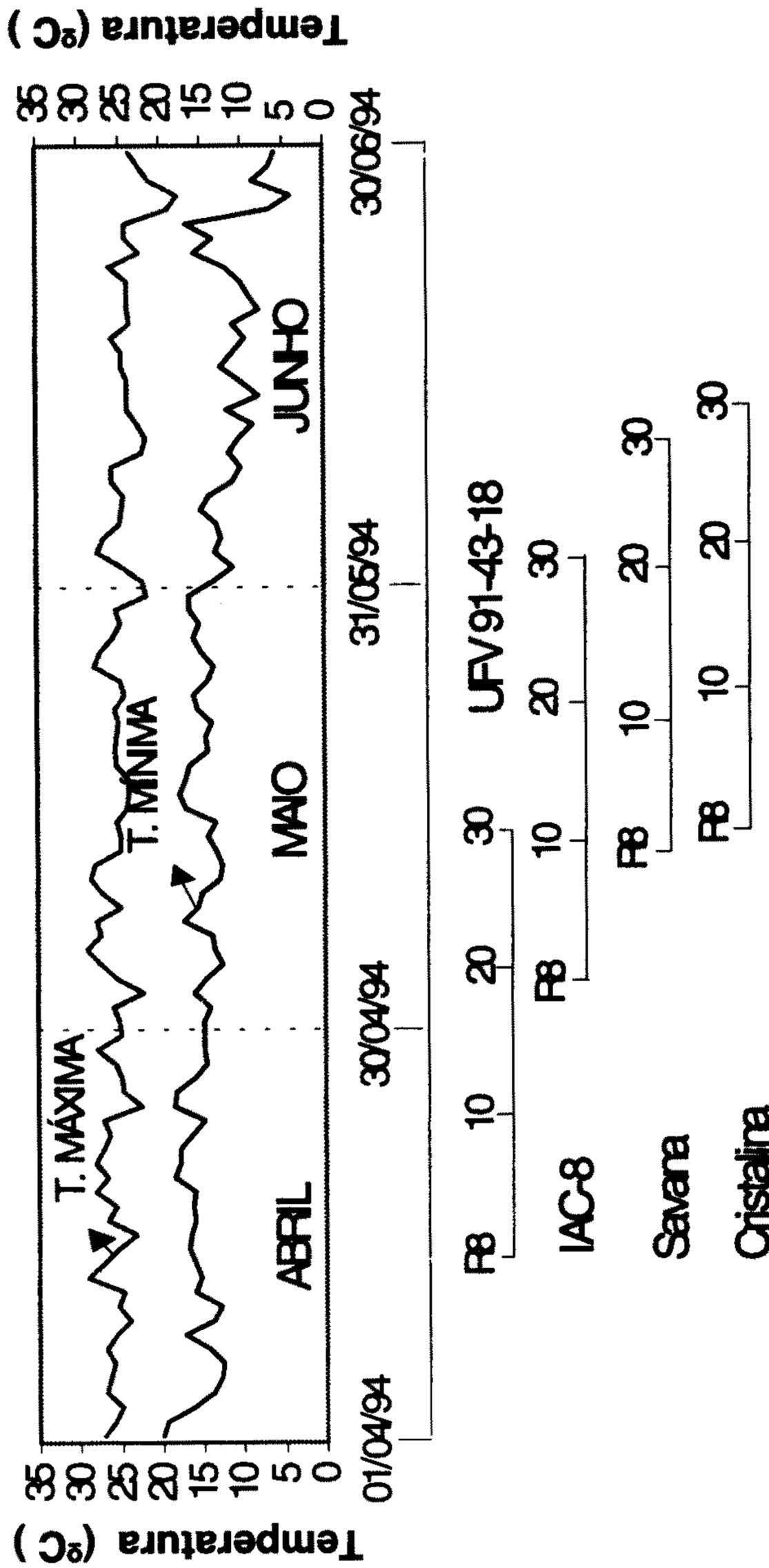


Figura 2 - Dados de temperaturas máxima e mínima do ar (°C), no período compreendido entre 1º.04.94 e 30.06.94, e representação comparativa das épocas de colheita, em dias, a partir do estágio R8, nos genótipos estudados.

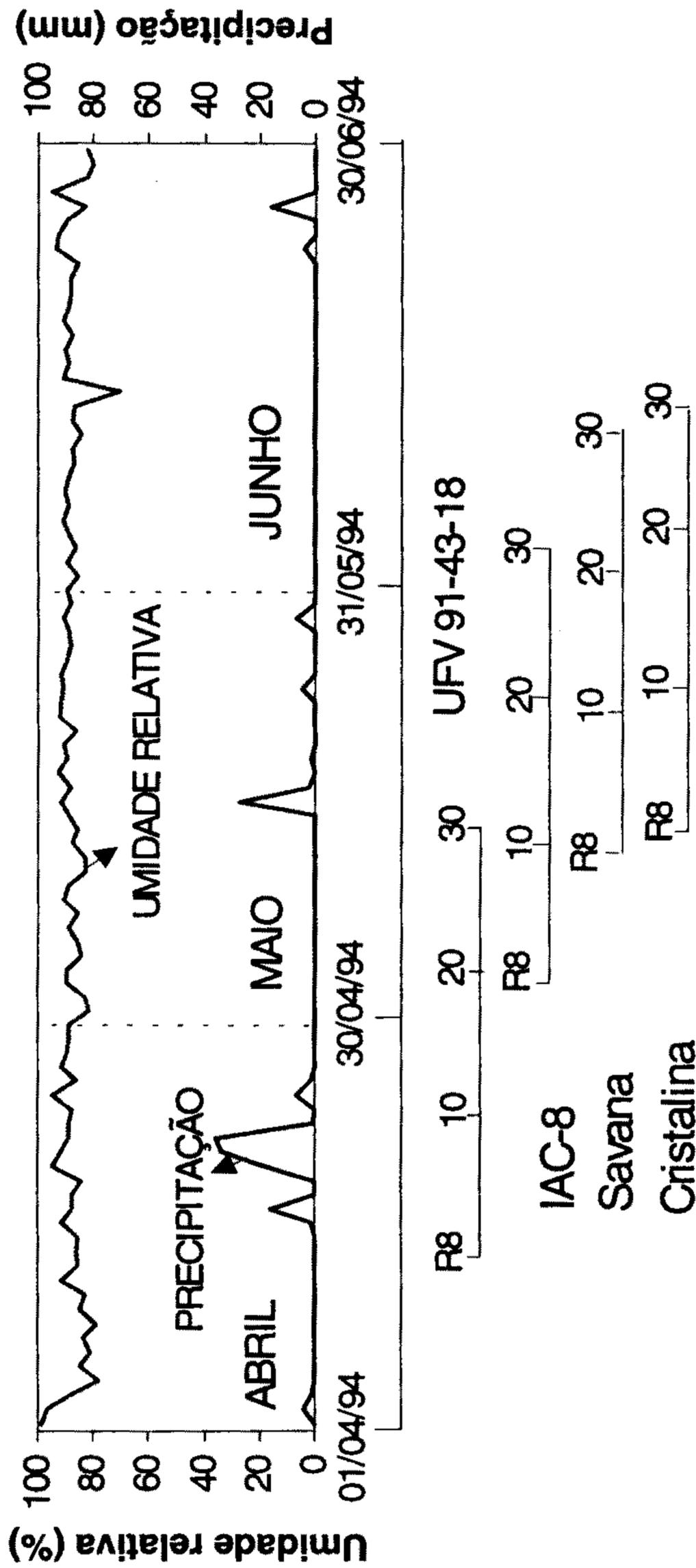


Figura 1 - Dados diários de umidade relativa do ar (%) e precipitação pluvial (mm), no período compreendido entre 1º.04.94 e 30.06.94, e representação comparativa das épocas de colheita, em dias, a partir do estágio R8, nos genótipos estudados.

De maneira geral, a qualidade visual foi prejudicada pelo retardamento da colheita. Entretanto, os genótipos estudados diferiram entre si quanto ao grau de tolerância ao retardamento de colheita no campo, quando utilizado o critério de qualidade visual, conforme também observado por outros autores (15, 17, 18).

A linhagem UFV 91-43-18 (sem LOX2 e 3) destacou-se com os melhores resultados de germinação e com menor número de sementes mortas em todas as épocas de colheita (Figuras 3 e 4). No teste "envelhecimento acelerado" foi observada queda mais acentuada do poder germinativo em todos os materiais genéticos com o retardamento de colheita (Figura 5).

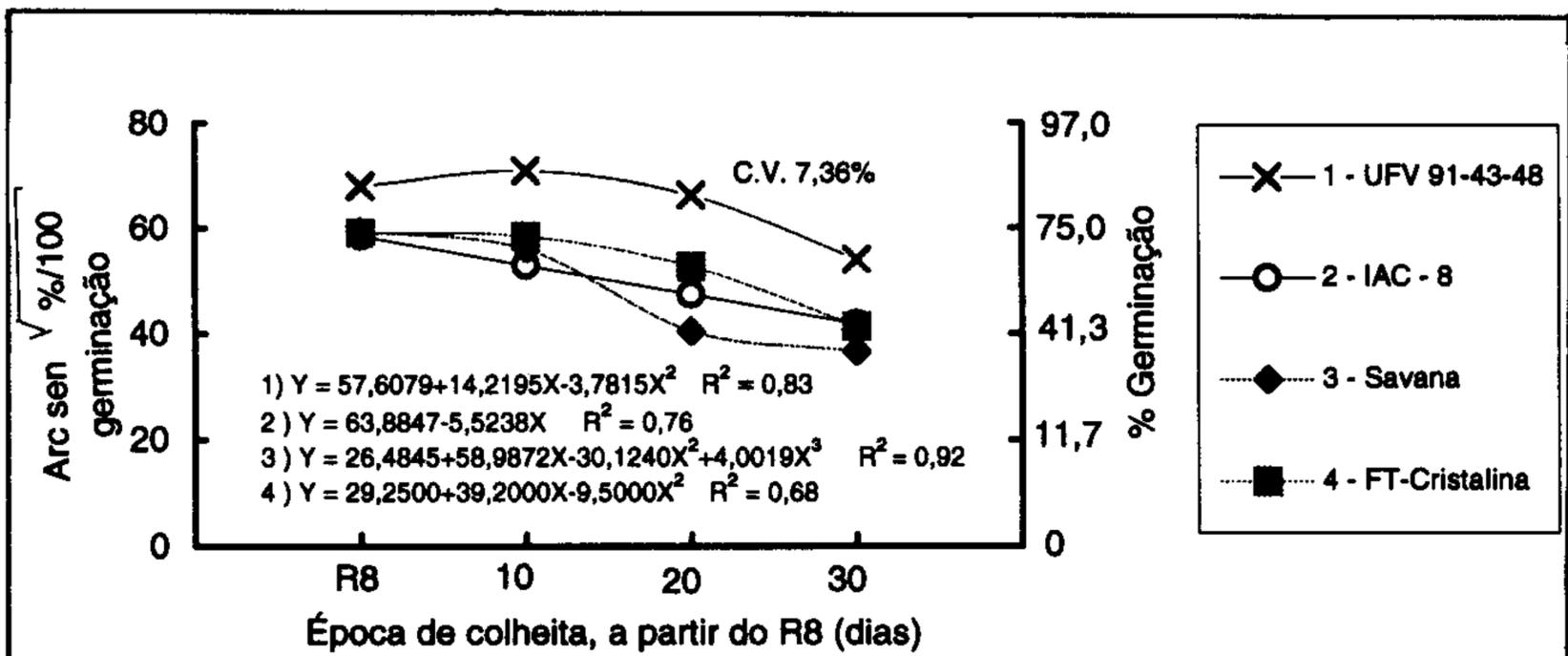


FIGURA 3 - Germinação das sementes, em quatro épocas de colheita, a partir do estágio R8.

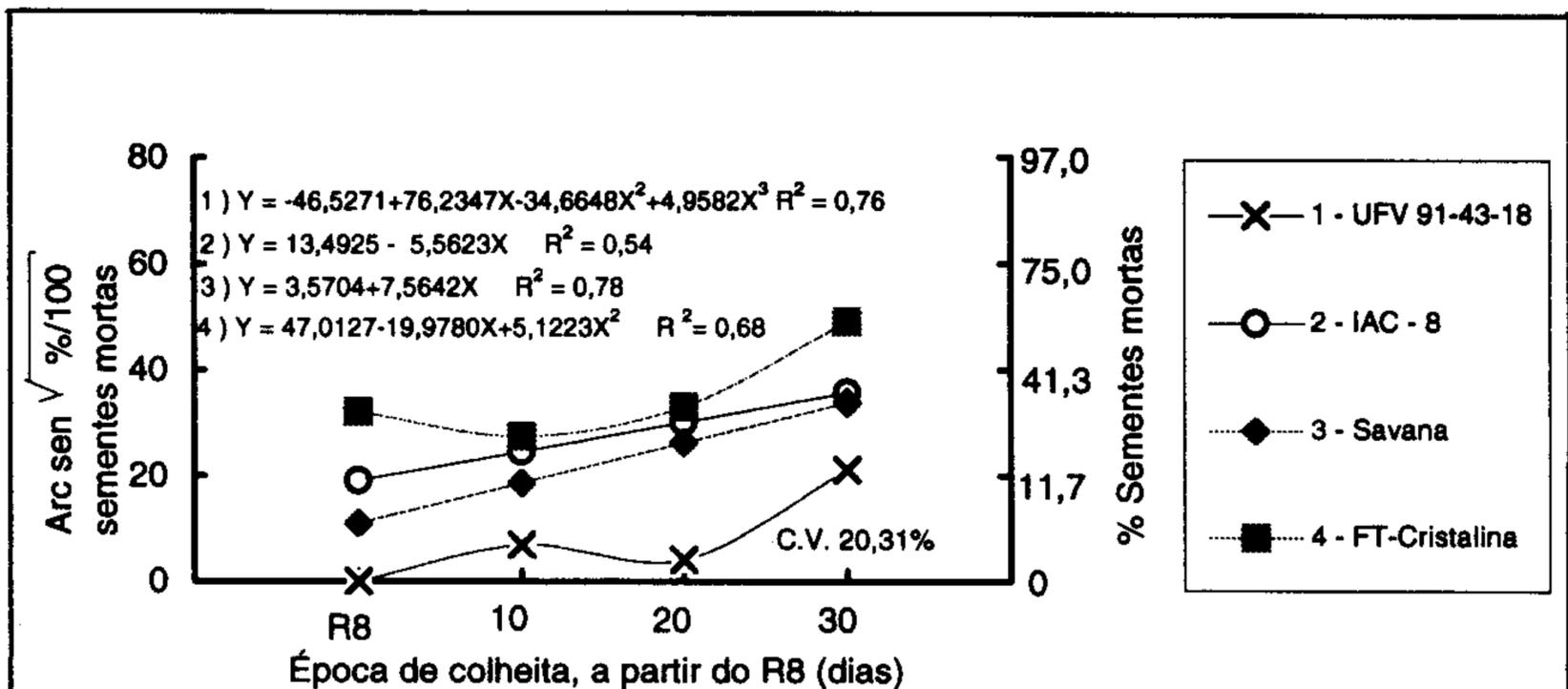
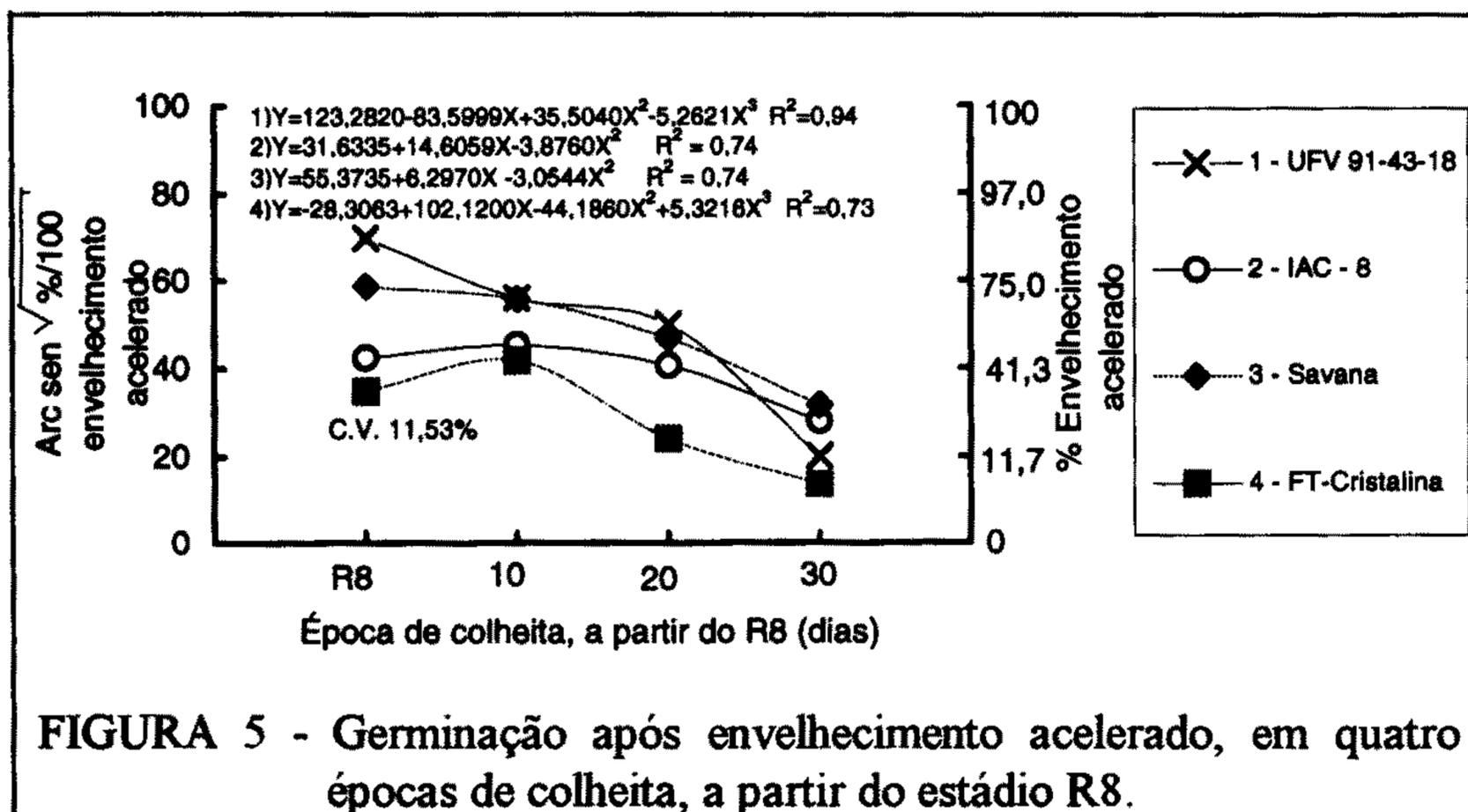
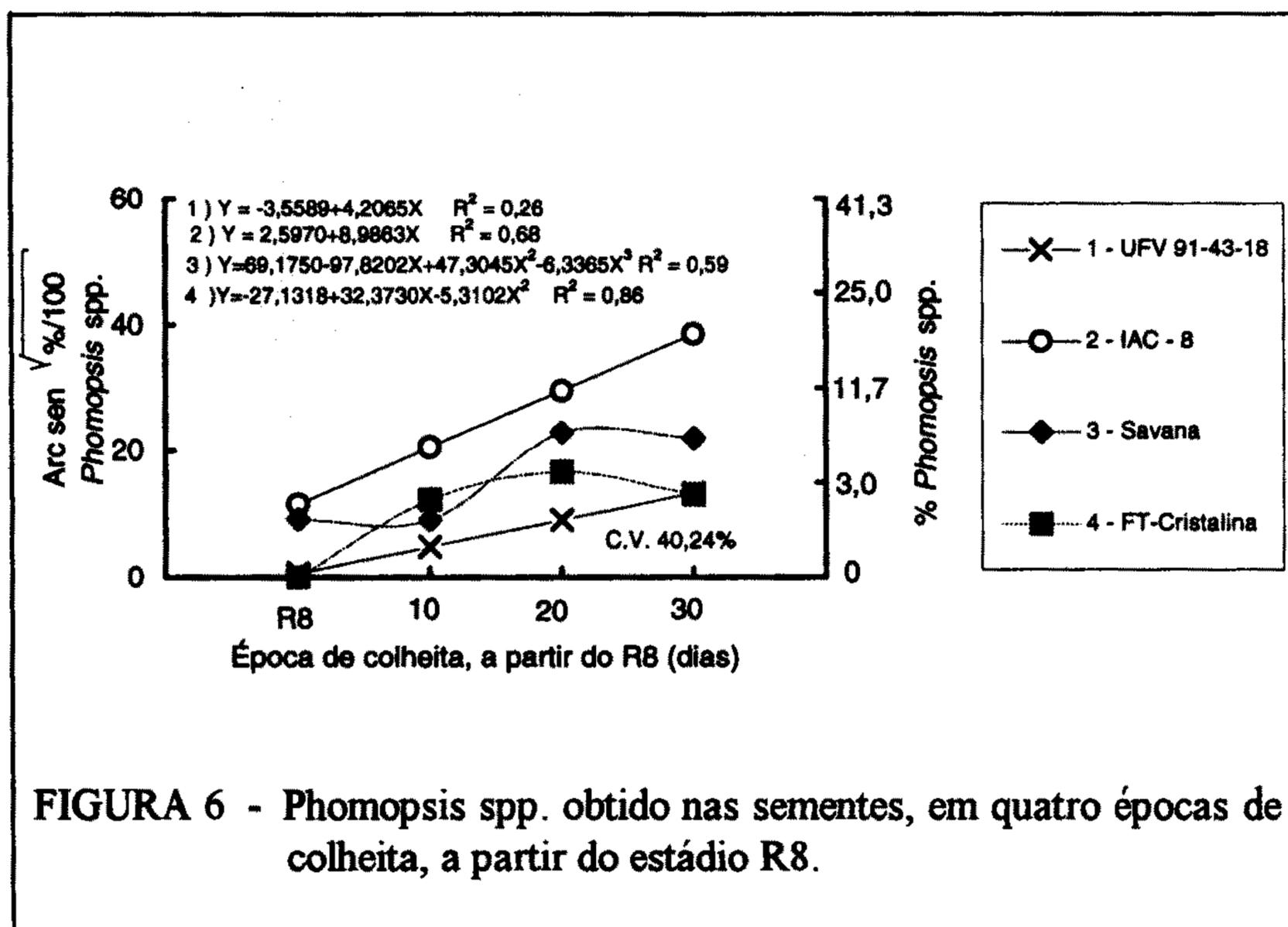


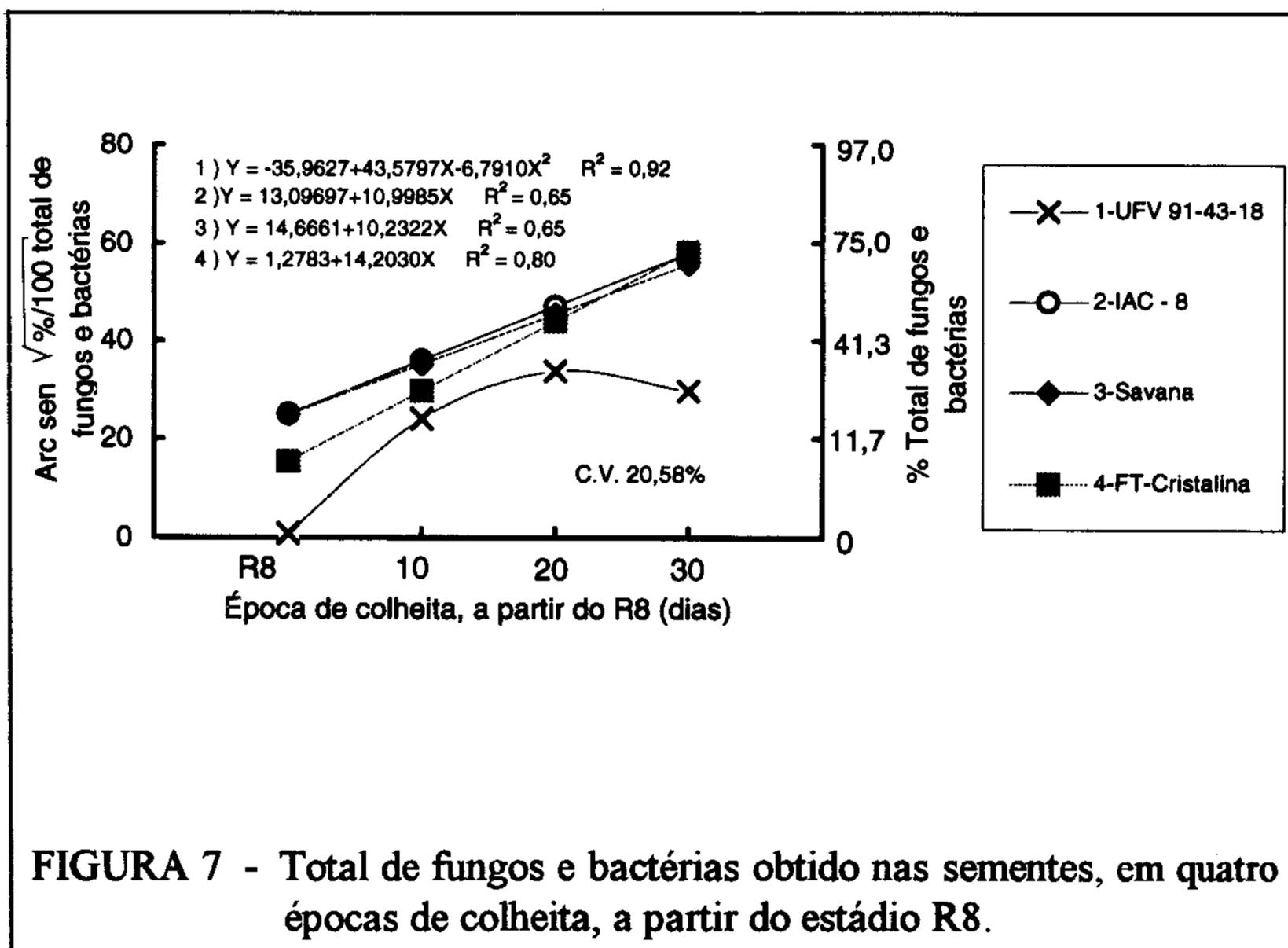
FIGURA 4 - Sementes mortas obtidas no teste-padrão de germinação, em quatro épocas de colheita, a partir do estágio R8.



Comparando a qualidade visual e os testes para avaliação da qualidade das sementes, podem-se observar resultados compatíveis em termos de qualidade de sementes, nos materiais genéticos estudados.

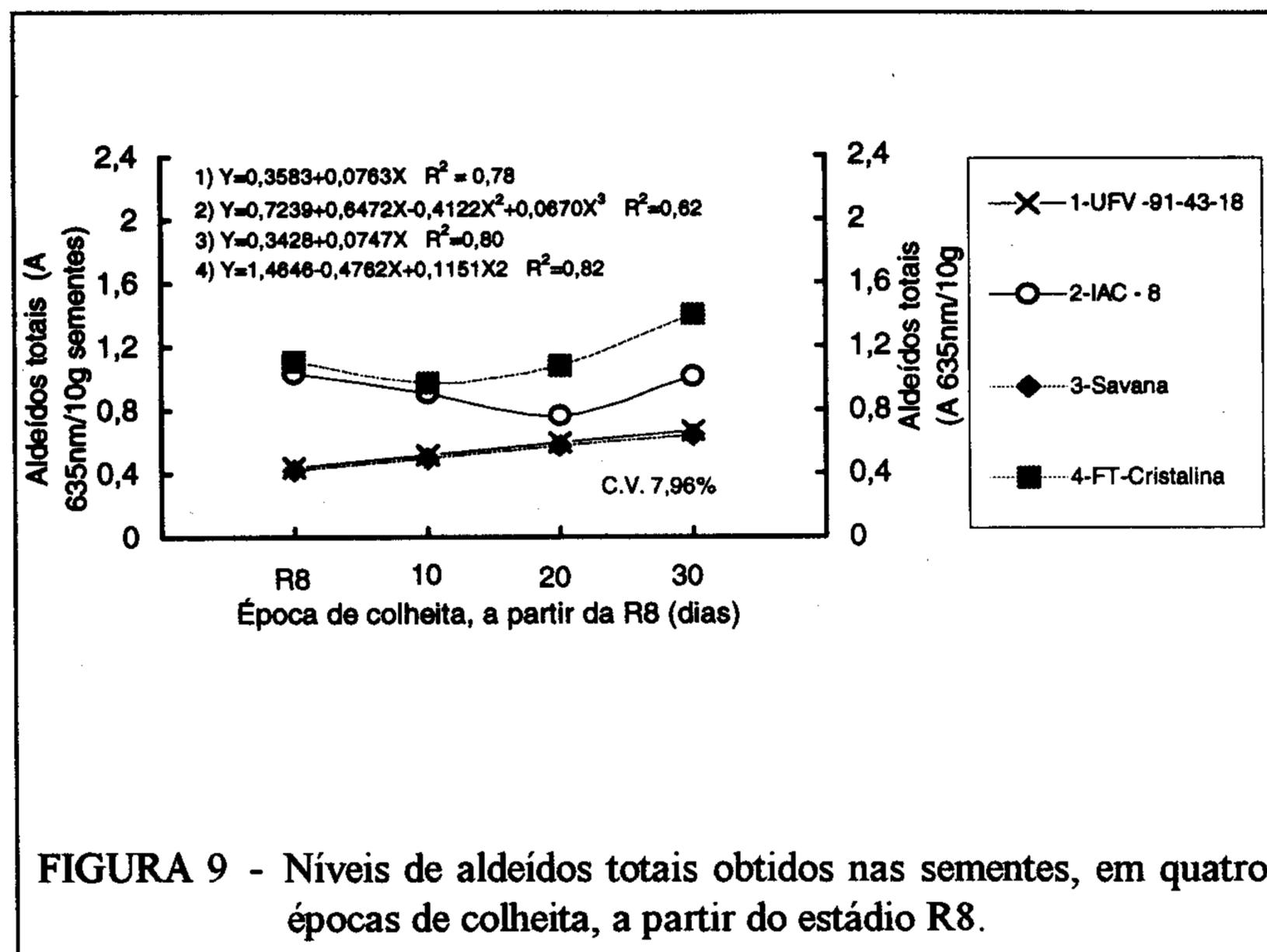
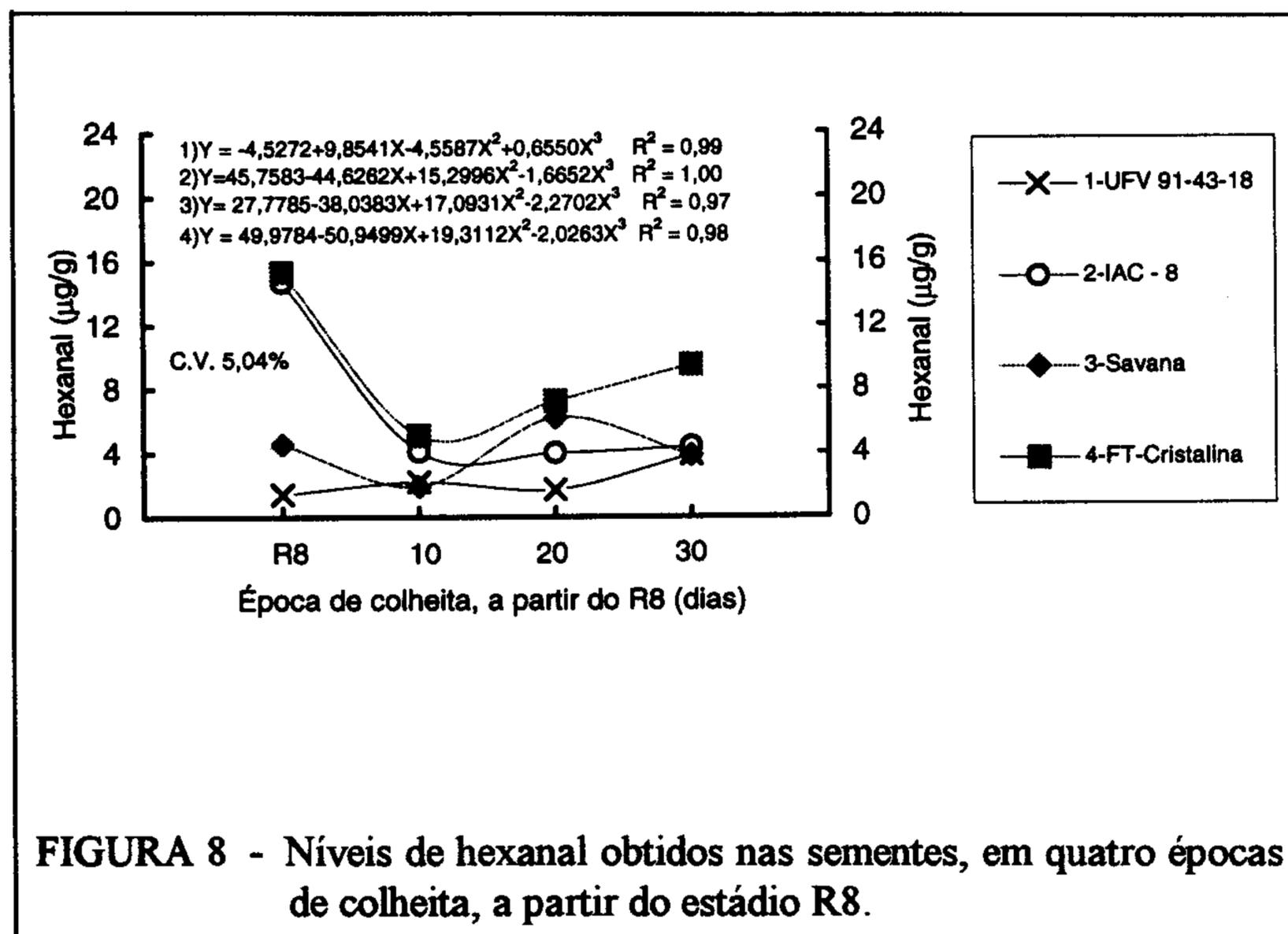
Quanto ao teste de sanidade de sementes (Figuras 6 e 7), em razão da baixa incidência de outras espécies, consideraram-se para avaliação da sanidade o dados de porcentagem de *Phomopsis* spp. e porcentagem total de fungos e bactérias. O retardamento de colheita provocou aumento significativo na maioria dos materiais genéticos.





A linhagem UFV 91-43-18, com o retardamento de colheita no campo, apresentou a menor porcentagem de *Phomopsis* spp. e do total de fungos e bactérias e o menor aumento da incidência desses patógenos. O cultivar FT-Cristalina mostrou, 30 dias após a primeira colheita, baixa porcentagem de *Phomopsis* spp. e a maior porcentagem do total de fungos e bactérias. A pior qualidade sanitária das sementes foi observada no cultivar IAC-8, com altos índices de infecção dos patógenos avaliados em todas as épocas de colheita, seguido pelo cultivar Savana. *Phomopsis* spp. tem sido considerado o principal patógeno relacionado com a qualidade das sementes (5, 9). Para ELLIS *et alii* (6), quando a ocorrência de *Phomopsis* spp. em um lote de sementes for igual ou superior a 25%, a germinação em laboratório e a emergência no campo serão reduzidas. Somente os cultivares IAC-8 e Savana apresentaram valores superiores após a terceira época de colheita.

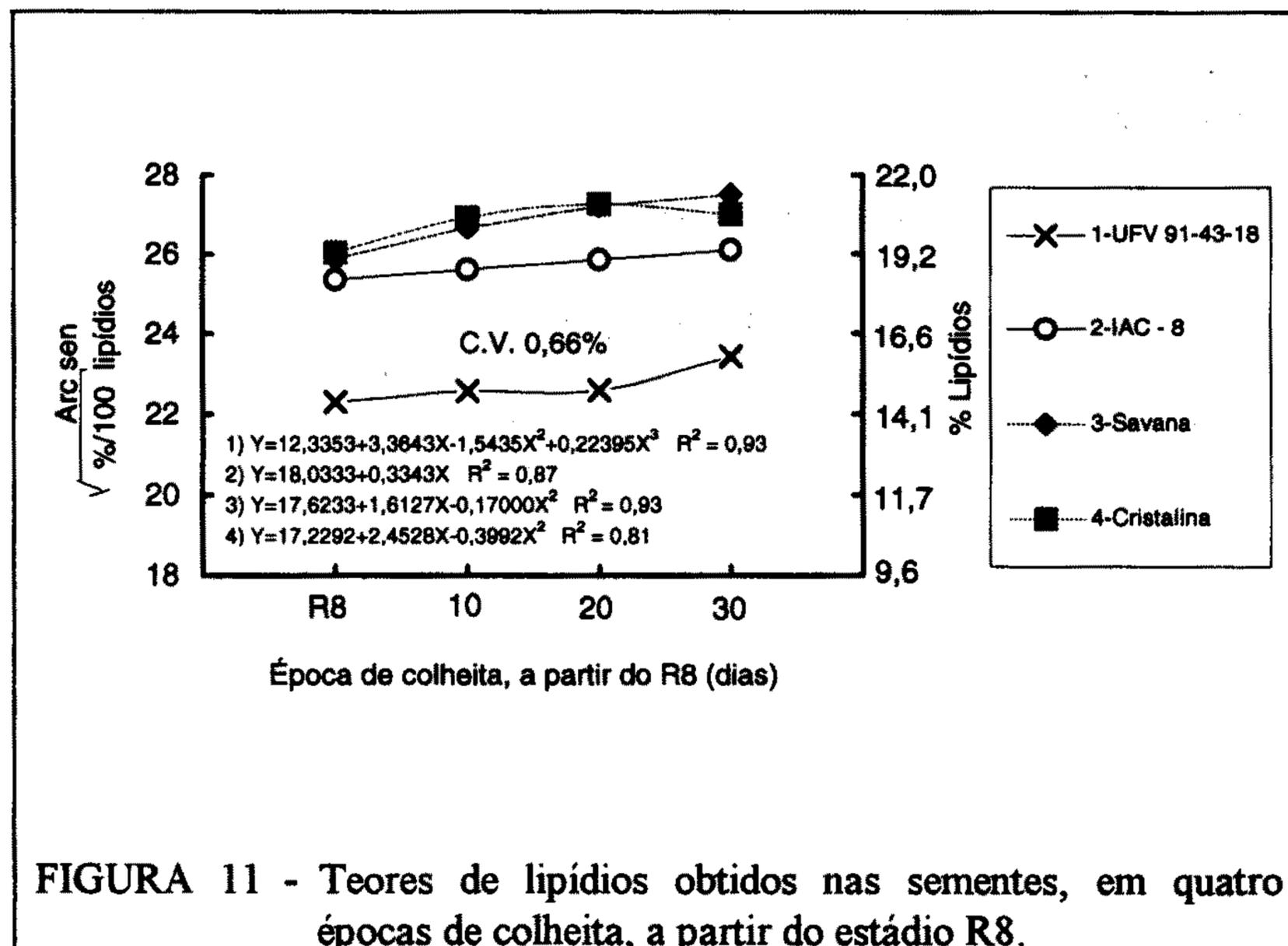
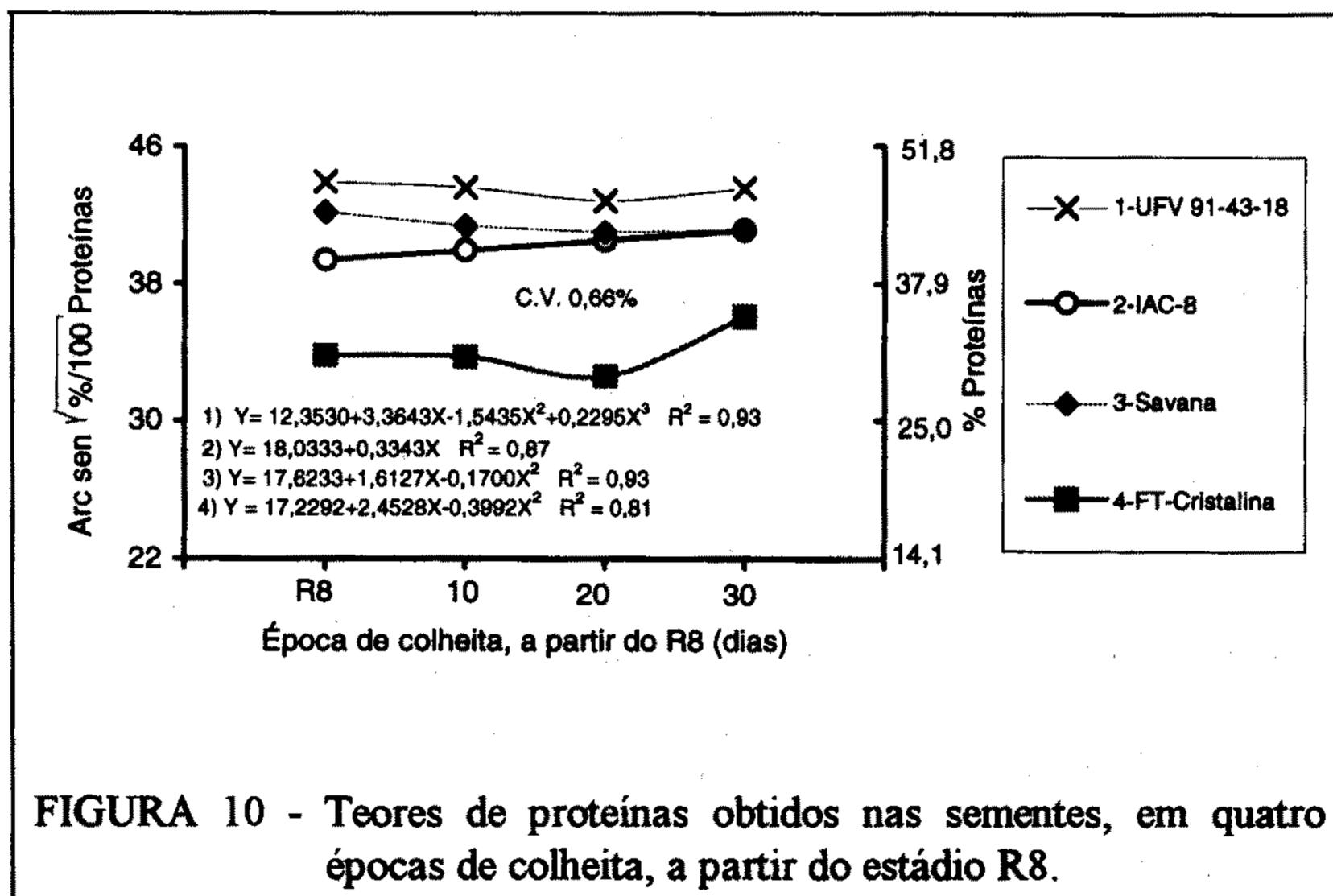
Os menores teores de hexanal e aldeídos totais foram encontrados na linhagem UFV 91-43-18 (Figuras 8 e 9). Dentre os genótipos estudados, essa linhagem, de maneira geral, apresentou melhor qualidade de sementes. A produção de hexanal e aldeídos totais esteve associada com a qualidade das sementes, apesar do comportamento atípico apresentado pelos cultivares IAC-8 e Cristalina, que apresentaram valores extremamente altos nos níveis de hexanal na primeira época de colheita.



Apesar de mais atingida por condições ambientais adversas nas épocas de colheita (Figuras 1 e 2), a linhagem UFV 91-43-18 apresentou a melhor qualidade fisiológica e sanitária das sementes. Este fator mostra que

a influência das condições ambientais não foi determinante nos resultados de qualidade das sementes dos diferentes genótipos.

Os genótipos apresentaram entre 33% e 44% de proteína e entre 14% e 22% de lipídios (Figuras 10 e 11). Conforme observado anteriormente, o



cultivar FT-Cristalina apresentou elevada porcentagem de sementes picadas por percevejo. VILLA BOAS *et alii* (21) afirmam que em sementes severamente atacadas por percevejo os teores de proteínas tendem a aumentar. Entretanto, neste trabalho, FT-Cristalina apresentou teores de proteínas abaixo daqueles normalmente encontrados neste cultivar.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Avaliaram-se a qualidade fisiológica e sanitária, a produção de aldeídos e os níveis de lipídios e proteínas em sementes de soja submetidas ao processo de retardamento de colheita no campo. Foram avaliados a linhagem UFV 91-43-18 (com ausência das lipoxigenases 2 e 3) e os cultivares IAC-8, Savana e FT-Cristalina. As sementes foram colhidas no estágio R8, quando as plantas apresentavam 95% das vagens maduras e com 10, 20 e 30 dias de retardamento. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada pelos testes-padrão de germinação e de envelhecimento acelerado. Realizou-se também o teste de sanidade de sementes e foram determinados os níveis de hexanal por cromatografia gasosa "head space"; níveis de aldeídos totais em sementes pré-germinadas por 24 horas pelo método colorimétrico do MBTH; teores de proteínas pelo método de Kjeldahl e de lipídios, determinados em extrator de Soxhlet. As sementes da linhagem UFV 91-43-18 apresentaram melhor qualidade fisiológica, sendo notada, também, menor produção de aldeídos, em relação aos cultivares comerciais. Foi observada boa associação entre produção de aldeídos e a qualidade fisiológica das sementes.

5. SUMMARY

(PHYSIOLOGICAL AND SANITARY QUALITY, ALDEHYDE PRODUCTION AND LIPID AND PROTEIN CONTENT IN SEEDS OF LINE UFV 91-43-18 (WITHOUT LIPOXYGENASES 2 AND 3) AND FROM THREE SOYBEAN CULTIVARS)

This study included soybean seeds of the UFV 91-43-18 line, lacking lipoxigenases 2 and 3 in the seeds, and of IAC-8, Savana and FT-Cristalina cultivars. The seeds were harvested at the stage R8 and 10, 20 and 30 days later. The physiological quality of the seeds was evaluated by the standard germination test, and accelerated aging test. The sanitary condition was evaluated by the blotter test; hexanal production, by head space gas chromatography; total aldehyde content, in pre-germinated seeds, by the MBTH method; and protein and lipid content, respectively, by the Kjeldhal

and Soxhlet methods. The results indicated that seeds of UFV 91-43-18 line showed better physiological quality and less aldehyde production than the three cultivars. There was a good association between aldehyde production and the physiological quality of the seeds.

6. LITERATURA CITADA

1. ARAÚJO, J.M.A. *Oxidação de lípidios*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1989. 22p. (Boletim de extensão).
2. AXELROD, V.; CHEEESBROUGH, T.M. & LAASKO, S. Lipoxygenase from soybeans. *Methods Enzymol.* 71: 441-451. 1981.
3. BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. *Regras para análises de sementes*. Brasília, DF, 1992. 365p.
4. CASTRO, C.A.S. *Evolução de hexanal e de aldeídos totais como índices para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de soja (Glycine max (L.) Merrill)*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1989.114p. (Tese de Doutorado).
5. DHINGRA, O.D.; SEDIYAMA, C.S. & SEDIYAMA, T. Effect of planting and harvest time on seed infection of soybean by *Phomopsis sojae* and *Fusarium semitectum*. *Fitopat. Bras.* 4: 467-472. 1979.
6. ELLIS, M.A.; MACHADO, C.C.; PRASARTSEE, C. & SINCLAIR, J.B. Occurrence of *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* (*Phomopsis* sp.) in various soybean seedlots. *Plant Disease Rep.* 58: 173-176. 1974.
7. FEHR, W.R. & CAVINESS, C.E. *Stages of soybean development*. Ames, Iowa State University, Cooperative Extension Service, 1979. 12p.
8. GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. 13ª ed., Piracicaba, ESALQ/USP, 1990. 468p.
9. HENNING, A.A. & FRANÇA NETO J.B. Problemas na avaliação da germinação de sementes de soja com alta incidência de *Phomopsis* sp. *Rev. Bras. Sem.* 2: 9-22. 1980.
10. KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B. & HENNING, A.S. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. *Informativo ABRATES 1*: 15-50. 1991.
11. KRZYZANOWSKI, F.C.; GILIOLI, J.L. & MIRANDA, L.C. Produção de sementes nos cerrados. In: ARANTES, N.E. & SOUZA, P.I.M.de (eds.). *Cultura da soja nos cerrados*. Piracicaba, POTAFÓS, 1993. p. 465-522.
12. MARCOS FILHO, J. Qualidade fisiológica de sementes de soja - cultivares Bragg e UFV-1 e comportamento das plantas no campo. *Pesq. Agropec. Bras.* 16: 405-413. 1981.
13. QUEIROZ, L.R. *Produção de aldeídos na germinação e qualidade de sementes de genótipos de soja com ausência de lipoxigenases*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1993. 53p. (Tese de Mestrado).
14. REIS, W.J.P.; ROCHA, V.S.; REZENDE, S.T.; MOREIRA, M.A. & SEDIYAMA, C.S. Correlação entre a evolução de n-hexanal e de aldeídos totais e a germinação e vigor de sementes de soja. *Rev. Ceres* 36: 27-37. 1989.
15. ROCHA, V.S. *Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de genótipos de soja (Glycine max (L.) Merrill), em tres épocas de colheita*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1982. 109p. (Tese de Mestrado).
16. SANTOS, I.C., REIS, W. J.P. , MOREIRA, M.A.; REZENDE, S.T.; ROCHA, W.S. & SEDIYAMA, C.S. Determinação de aldeídos totais para avaliar o potencial de germinação e o vigor de sementes de soja. *Rev. Ceres* 40: 438-444. 1993.

17. SEDIYAMA, C.S. *Influência do retardamento da colheita de soja sobre a deiscência das vagens, qualidade e poder germinativo das sementes*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1972.68p. (Tese de Mestrado).
18. SEDIYAMA, T. *Influência da época de colheita sobre a qualidade das sementes e outras características agronômicas de duas variedades de soja (Glycine max (L.) Merrill)*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1979.121p (Tese de Mestrado).
19. TYAGI, C.S. Evaluating the effect weathering on soybean seed using a volatile aldehydes assay. *Seed Sci. Techn.* 20: 719-721. 1992.
20. VIDAL, R.M.R.; MOREIRA, M.A.; PINHEIRO, W.J.; ROCHA, V.S.; REZENDE, S.T. & SEDIYAMA, C.S. Relação entre vigor e alterações bioquímicas na germinação de sementes de soja. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 4: 49-53. 1992.
21. VILLAS BÔAS, G.L.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, M.C.N.; COSTA, N.P.; ROESSING, A.C.; FRANÇA NETO, J.B. & HENNING, A.A. *Efeitos de diferentes populações de percevejo sobre o rendimento e seus componentes, características agronômicas e qualidade da semente de soja*. Londrina, EMBRAPA-CNPSo, 1990. 43p. (Boletim de Pesquisa, 1).
22. WILSON JR., D.O. & McDONALD JR., M.B. A convenient volatile aldehyde assay for measuring seed vigour. *Seed Sci. Techn.*14: 259-268.1986.
23. WILSON JR., D.O. & McDONALD JR., M.B. The lipid peroxidation model of seed aging. *Seed Sci. Techn.* 14: 229-300. 1986.