

QUALIDADE FISIOLÓGICA E PRODUÇÃO DE ALDEÍDOS EM SEMENTES DE LINHAGENS DE SOJA COM AUSÊNCIA DE LIPOXIGENASES¹

Dario A. Oliveira²
Carlos S. Sedyama³
Tuneo Sedyama³
Valterley S. Rocha³
Inês Chamel José²
Maurílio A. Moreira⁴

1. INTRODUÇÃO

Geralmente são encontradas três isoenzimas lipoxigenases (LOX1, LOX2 e LOX3) na maioria dos cultivares comerciais de soja. A enzima lipoxigenase (E.C. 1.13.11.12) catalisa a peroxidação de ácidos graxos polinsaturados contendo grupo de cis-cis pentadieno (5).

WILSON Jr. e McDONALD Jr. (14) propuseram um modelo hipotético, em que consideram a peroxidação de lipídios com produção de aldeídos e outros produtos secundários como uma das principais causas da deterioração de sementes.

Alguns autores têm verificado associação entre produção de aldeídos e qualidade de sementes de soja (2, 7, 12, 13).

O objetivo deste trabalho foi estudar a qualidade fisiológica e produção de aldeídos em sementes de diferentes linhagens de soja com ausência de LOX1, LOX2 ou LOX3, obtidas no programa de

¹ Aceito para publicação em 28.08.1997. Parte da tese de M.S. do primeiro autor.

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

³ Dep. Fitotecnia da UFV, 36571-000, Viçosa-MG.

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

desenvolvimento de cultivares de soja com melhor sabor e qualidade para alimentação humana da Universidade Federal de Viçosa.

2. MATERIAL E MÉTODOS

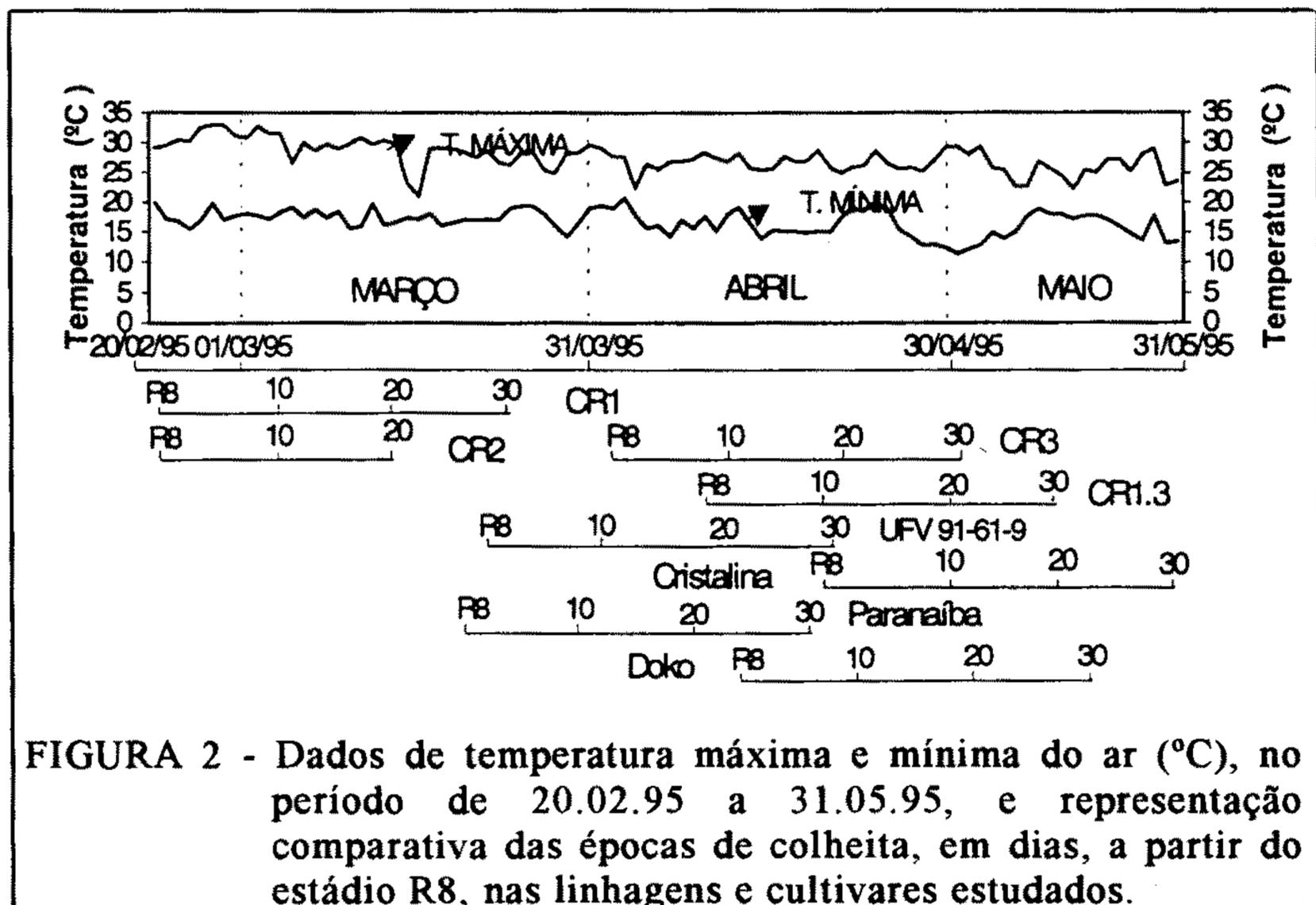
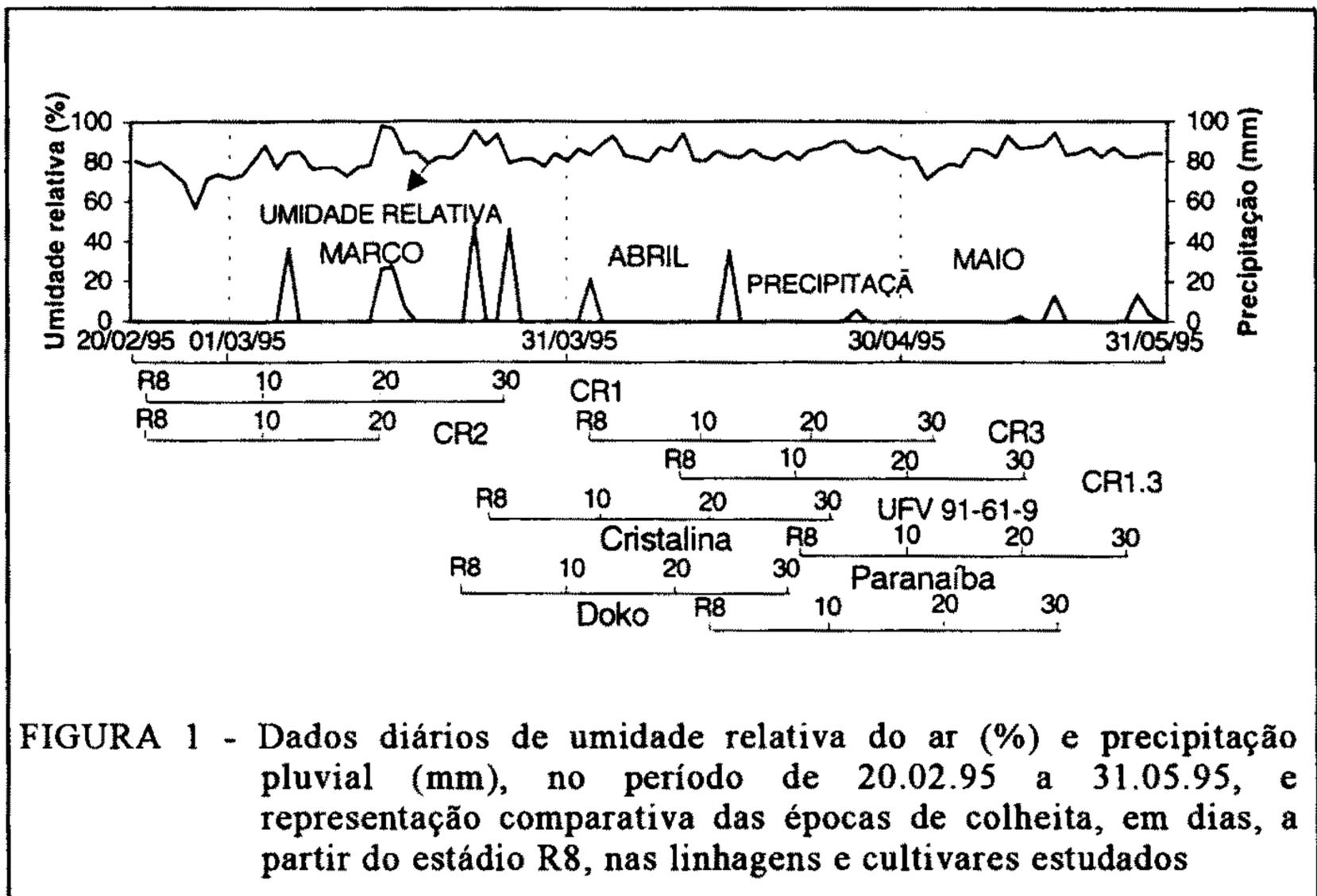
O presente trabalho foi conduzido no campo experimental, no Laboratório de Análises de Sementes do Departamento de Fitotecnia, e em laboratórios do Núcleo de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais.

As linhagens CR 1, sem lipoxigenases 1; CR 2, sem lipoxigenases 2; CR 3, sem lipoxigenase 3; CR 1,3, sem lipoxigenase 1 e 3; UFV 91-61-9, sem lipoxigenase 2 e 3 desenvolvidas pelo programa de melhoramento de soja da Universidade Federal de Viçosa e os cultivares FT-Cristalina, Paranaíba e Doko foram cultivados, no campo, no ano agrícola 1994/1995. As sementes de cada linhagem e cultivar foram colhidas em quatro épocas diferentes e subseqüentes, com retardamento, para induzir aumento da deterioração e diminuição de suas qualidades fisiológicas. A primeira colheita foi realizada no estágio R8 da escala de FEHR e CAVINESS (3), quando as plantas se encontravam com 95% das vagens, e as demais 10, 20, e 30 dias após a primeira colheita. Após a colheita, as sementes foram preparadas adequadamente para a realização dos testes de avaliação em laboratório.

Nas Figuras 1 e 2 estão apresentados os dados climáticos referentes ao período entre 20.02.95 e 31.05.95, no município de Viçosa-MG, e à representação comparativa das épocas de colheita das linhagens e cultivares estudados.

Nos laboratórios, as sementes foram avaliadas quanto às qualidades visual e fisiológica, por meio dos testes-padrão de germinação e envelhecimento acelerado. Foram determinados, também, os níveis de hexanal e de aldeídos totais.

A avaliação da qualidade visual foi realizada com base no aspecto geral do lote de sementes, considerando em conjunto o grau de desenvolvimento das sementes, o enrugamento, a rachadura, a cor e o brilho do tegumento e as lesões causadas por percevejos, atribuindo 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 (1), e o vigor, pelo teste de envelhecimento acelerado. No teste de envelhecimento

acelerado, 200 sementes foram acondicionadas em caixas "gerbox" com uma lâmina de água desmineralizada, de 40 ml no fundo, com as sementes suspensas e isoladas por uma malha metálica (100% de umidade relativa). Em seguida foram colocadas em estufas incubadoras a 41°C e mantidas por 48 horas, conforme recomendação de KRZYZANOWSKI *et al.* (6). Após esse período, quatro repetições de 50 sementes foram colocadas para germinar, de acordo com teste-padrão de germinação.

Os níveis de hexanal foram determinados por cromatografia gasosa, pela técnica de espaço livre "head space", e os níveis de aldeídos totais determinados conforme método colorimétrico desenvolvido por WILSON e McDONALD (13), com modificações sugeridas por SANTOS *et al.* (10). As análises foram realizadas em sementes pré-germinadas por 24 horas, utilizando o 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (MBTH) como reagente de cor.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, e os dados foram submetidos à análise de variância. Analisou-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 $\text{arc sen } \sqrt{\% / 100}$, de acordo com GOMES (4).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cultivares FT-Cristalina e Doko e as linhagens CR3 (sem LOX 3) e CR1,3 (sem LOX 1 e 3) apresentaram a melhor qualidade visual das sementes. A pior qualidade visual foi observada nas linhagens CR1 (sem LOX 1), CR2 (sem LOX 2), UFV 91-61-9 (sem LOX 2 e 3) e no cultivar Paranaíba (Quadro 1). A qualidade visual foi prejudicada pelo retardamento de colheita no campo, enquanto os materiais estudados diferiram entre si quanto ao grau de tolerância ao retardamento, conforme observado também por outros autores (9, 11). A ocorrência de acamamento influenciou negativamente na qualidade das sementes em todas as linhagens e cultivares estudados.

QUADRO 1 - Qualidade visual atribuída às sementes dos genótipos, em quatro épocas de colheita. Notas de 1 a 5¹

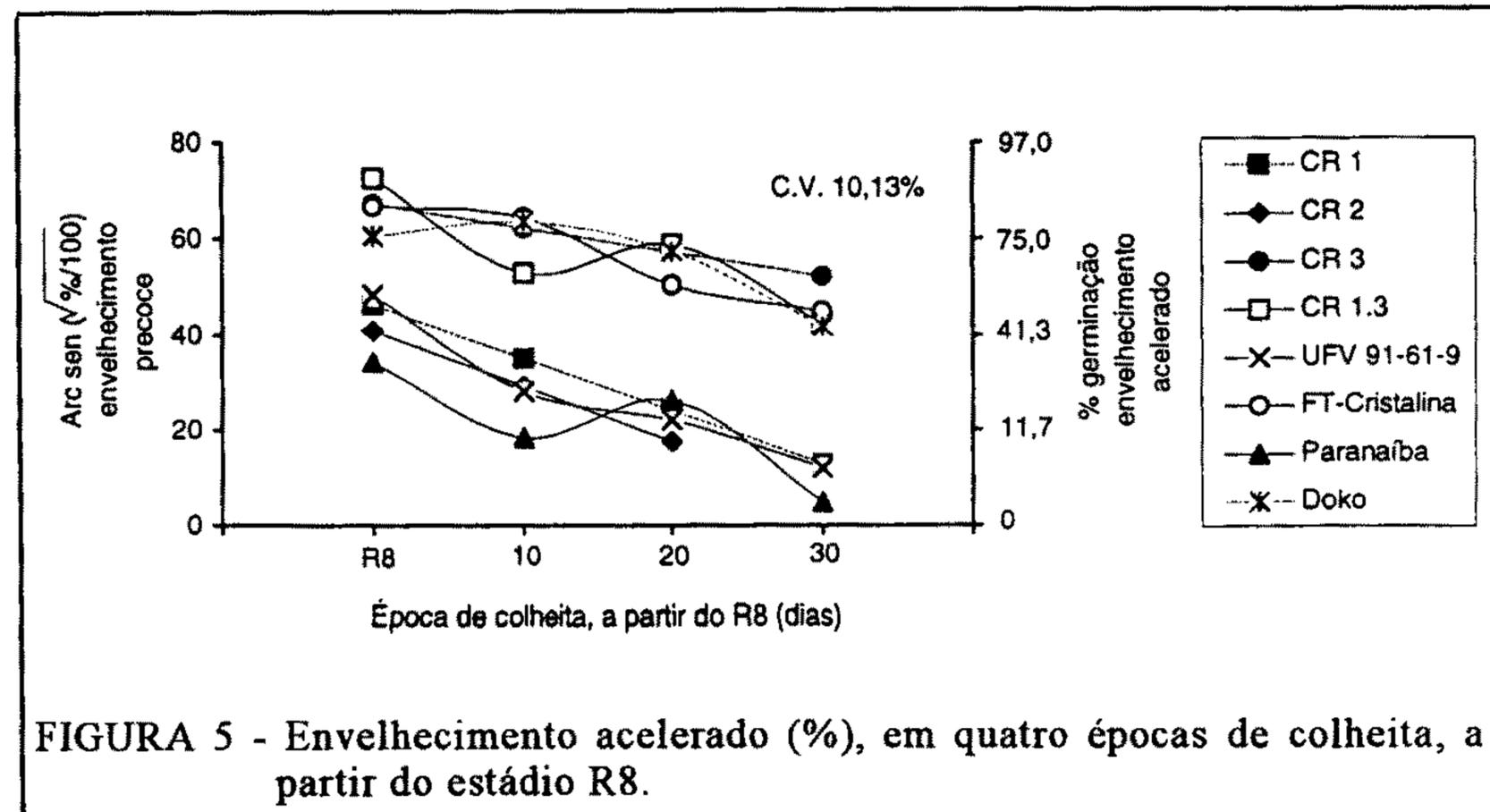
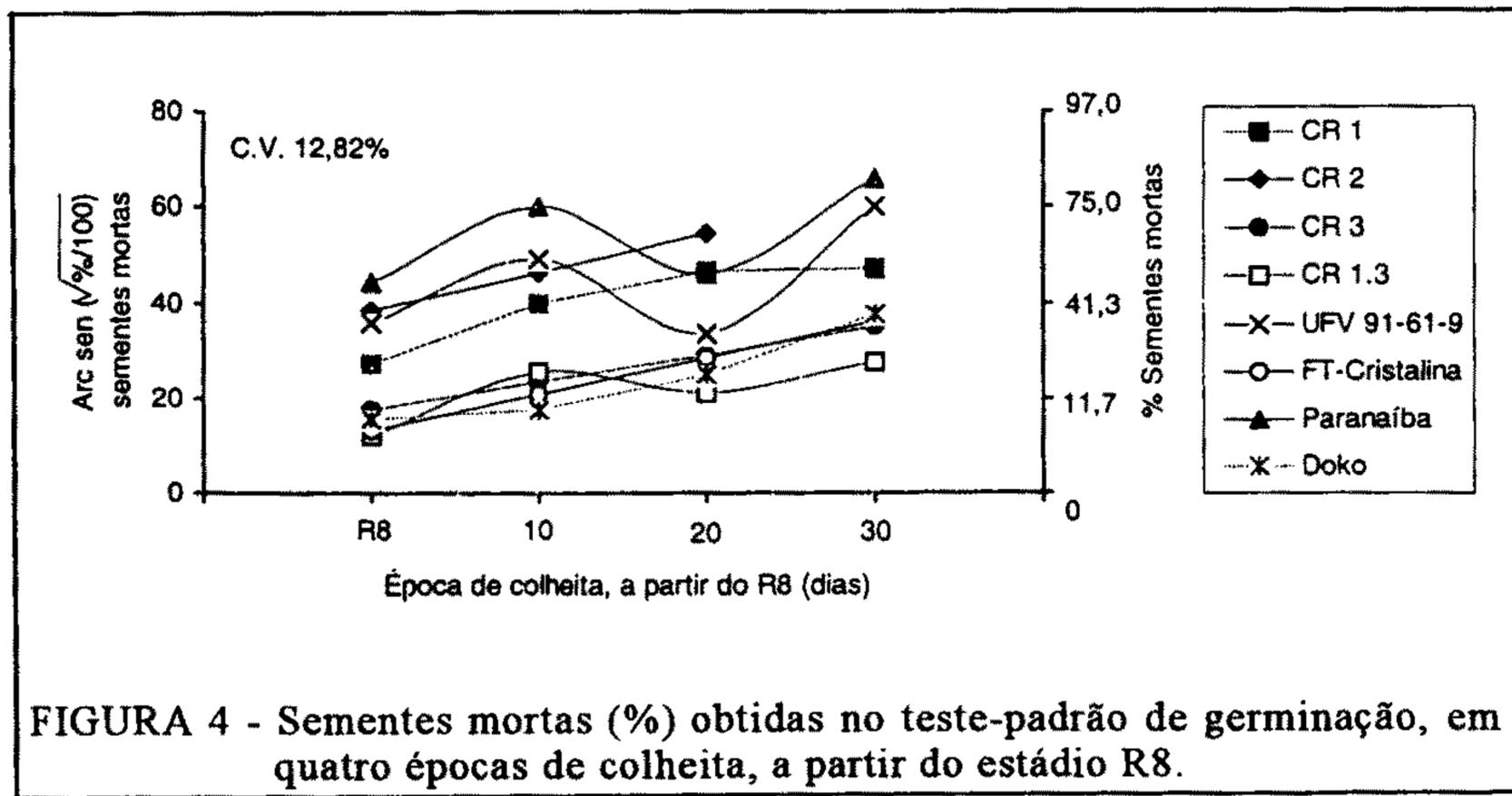
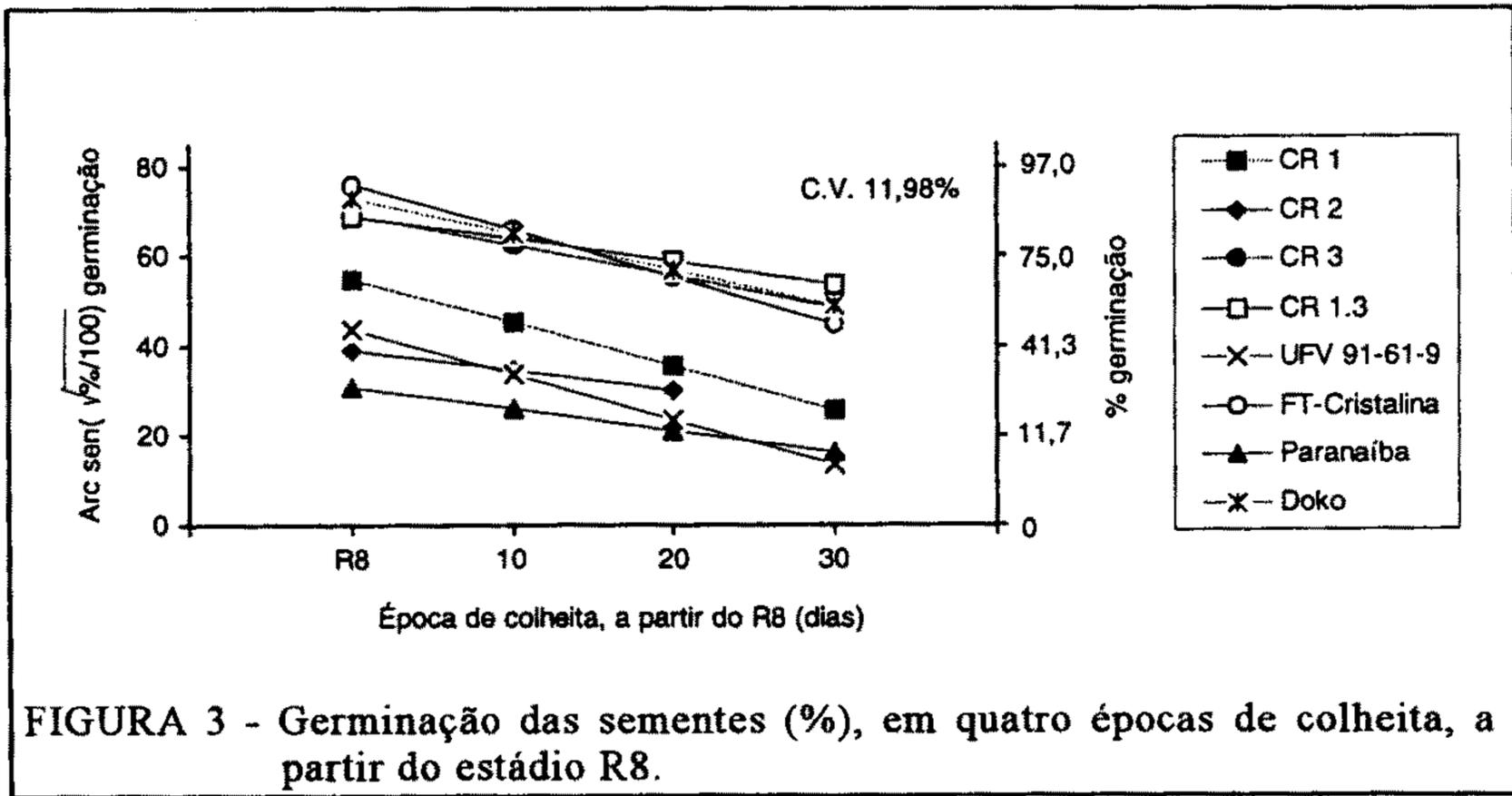
Cultivar/Linhagem	Épocas de colheita ²				Média
	Dias após o estágio R8				
	R8	10	20	30	
CR1	2,5	2,5	3,0	3,5	3,0
CR2	2,5	3,5	3,5	-	3,2
CR3	1,5	2,0	2,5	2,5	2,1
CR1,3	1,5	1,5	2,0	3,0	2,0
UFV 91-61-9	2,0	3,5	3,5	4,5	3,4
Paranaíba	2,5	3,5	3,5	4,0	3,4
FT-Cristalina	1,0	1,5	2,0	3,5	2,0
Doko	1,5	2,0	2,5	3,0	2,2
Média	1,9	2,5	2,8	3,4	

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

Foi observada redução significativa na porcentagem de germinação com o retardamento da colheita de soja em todos os materiais. Os cultivares Doko e FT-Cristalina e as linhagens CR3 (sem LOX 3) e CR1.3 (sem LOX 1 e 3) apresentaram os melhores resultados de germinação, sementes mortas e germinação após o envelhecimento acelerado (Figuras 3, 4 e 5).

RAMOS (8), estudando diferentes linhagens com ausência de lipoxigenases, observou maior produção de hexanal na linhagem CR1. De acordo com esse mesmo autor, esta maior produção de hexanal deve-se principalmente à ausência de LOX 1, que, possivelmente, possibilita maior atuação das izoenzimas LOX2 e 3, as quais encontram pH adequado para atuação de 6,8 e 7,0, respectivamente, bem como substratos preferenciais que são os ácidos graxos esterificados, levando, conseqüentemente, a uma produção mais elevada de hexanal.

No presente trabalho, as linhagens CR3 e CR1,3 apresentaram boa qualidade das sementes e pequena produção de hexanal nas diferentes épocas de colheita. Os resultados de pior qualidade e grande produção de hexanal encontrados na linhagem UFV 91-61-9 neste período diferem dos resultados encontrados por QUEIROZ (7), em que as linhagens apresentando ausência da lipoxigenase 3 mostraram boa qualidade das sementes e baixos teores de hexanal com o retardamento de colheita no campo. Entretanto, nas Figuras 1 e 2, pode-se observar que as colheitas da linhagem UFV 91-61-9 (sem LOX 2 e 3) coincidiram em períodos de condições climáticas bastante adversas, influenciando na qualidade visual das sementes.



A avaliação e comparação da qualidade fisiológica de sementes entre materiais de ciclos diferentes, por meio de retardamento de colheita no campo, torna-se difícil. As diferenças das condições de ambiente entre as colheitas das linhagens e cultivares escondem as diferenças de qualidade das sementes provenientes de característica genética. Assim, não houve a possibilidade de observação de associação entre ausência ou presença de lipoxigenase e qualidade fisiológica de sementes, por meio das variáveis estudadas.

Nas linhagens CR 1, CR 3, CR 1,3 e nos cultivares FT-Cristalina e Doko houve tendência de manutenção dos teores de hexanal encontrados no estágio R8, com o retardamento de colheita. Na linhagem UFV 91-61-9 e no cultivar Paranaíba foi observado grande aumento, atípico, após o estágio R8+20 dias (Figura 6).

Os teores de aldeídos totais mostraram pequeno aumento ou manutenção dos níveis, com o retardamento de colheita, nos genótipos que apresentaram melhor qualidade fisiológica. Nos genótipos com pior qualidade, os teores de aldeídos totais tiveram tendência de maior aumento com o retardamento da colheita (Figura 7).

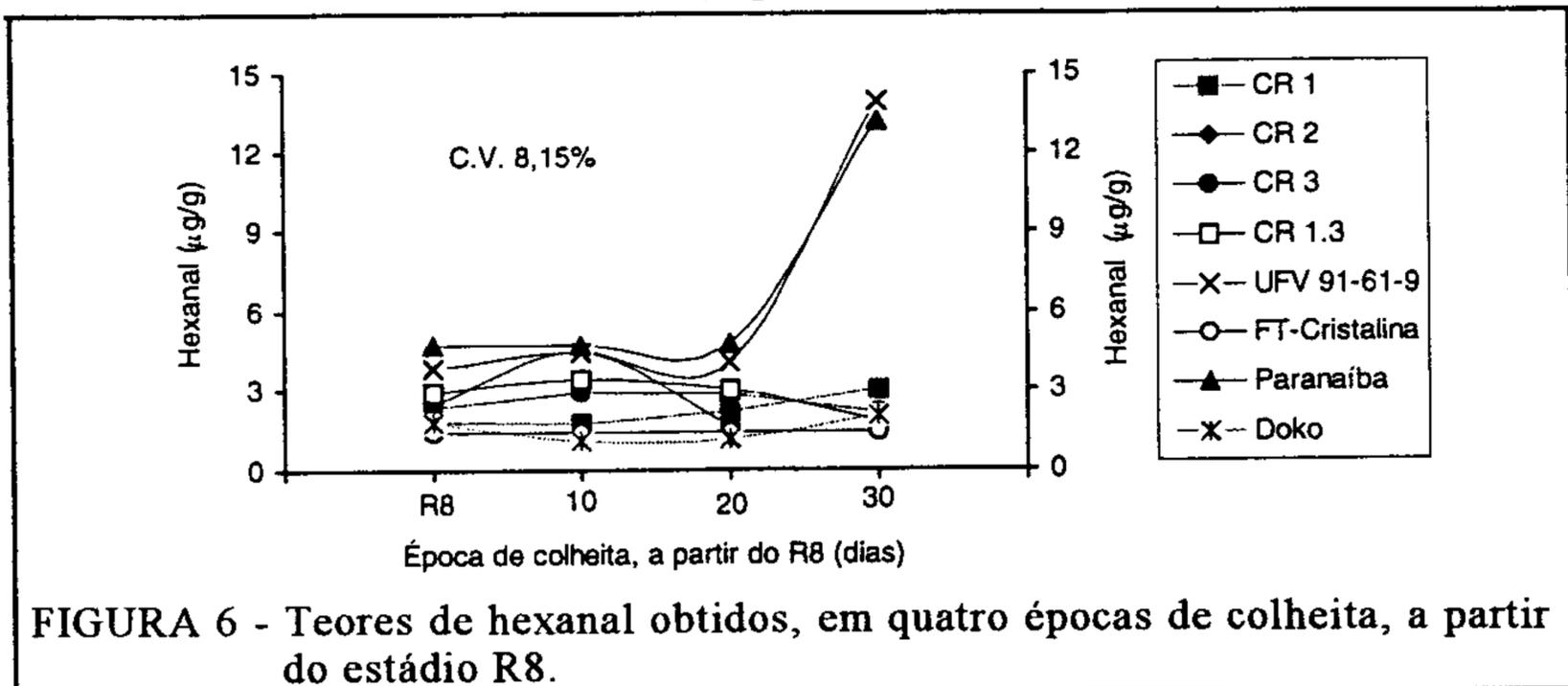


FIGURA 6 - Teores de hexanal obtidos, em quatro épocas de colheita, a partir do estágio R8.

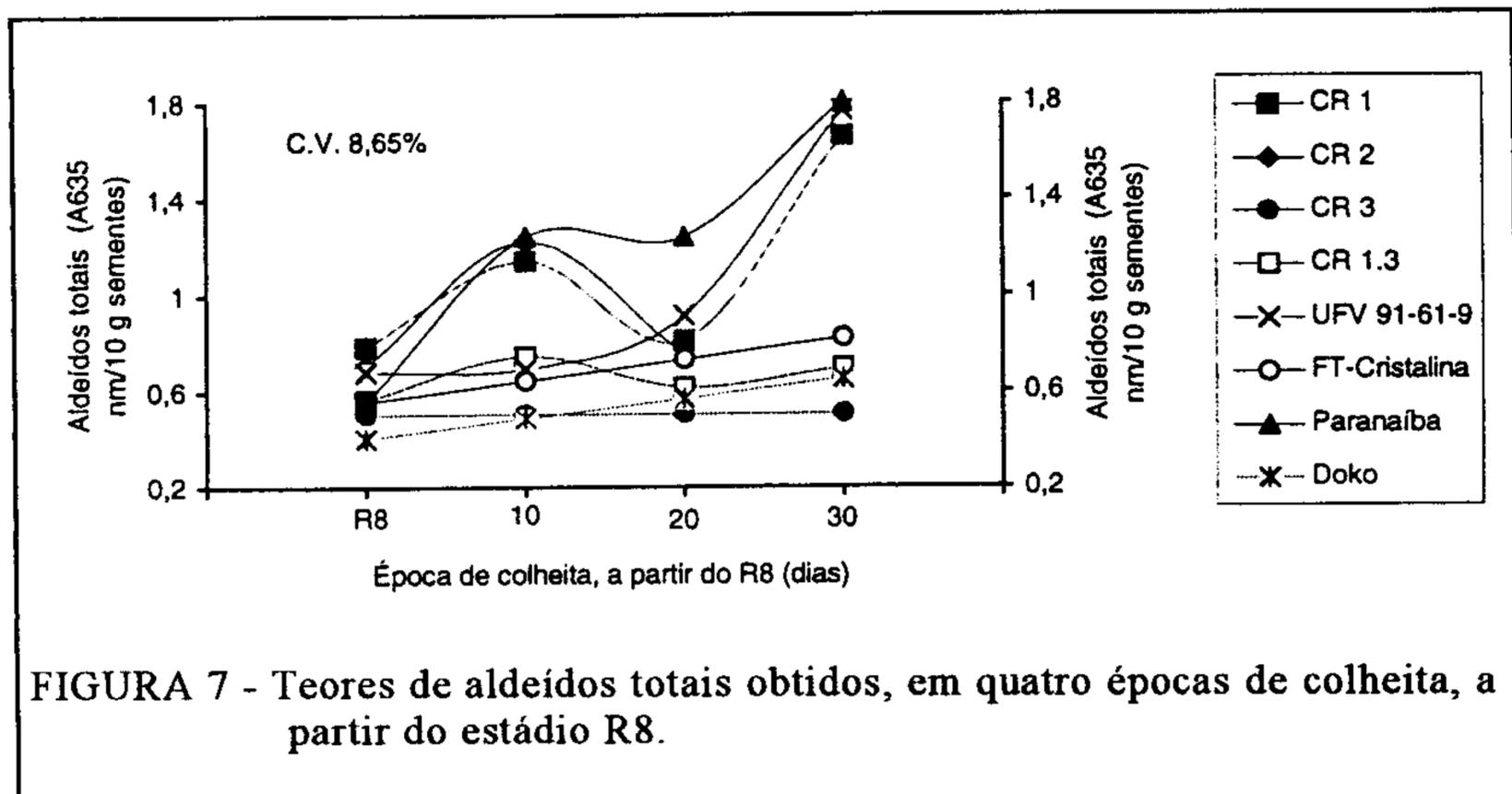


FIGURA 7 - Teores de aldeídos totais obtidos, em quatro épocas de colheita, a partir do estágio R8.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Avaliaram-se a qualidade fisiológica e a produção de aldeídos em sementes de soja submetidas ao processo de retardamento de colheita no campo nas linhagens CR1, sem lipoxigenase 1; CR 2, sem lipoxigenase 2; CR 3, sem lipoxigenase 3; CR 1,3, sem lipoxigenases 1 e 3; UFV 91-61-9, sem lipoxigenases 2 e 3; e nos cultivares FT-Cristalina, Paranaíba e Doko. Após o cultivo no campo, as sementes foram colhidas no estágio R8 da escala de FEHR e CAVINESS (2), quando as plantas se encontravam com 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. Foram determinados, também, os níveis de hexanal por cromatografia gasosa "head space" e os de aldeídos totais em sementes pré-germinadas por 24 horas, pelo método colorimétrico do MBTH. Os cultivares FT-Cristalina e Doko e as linhagens CR3 (sem LOX 3) e CR1.3 (sem LOX 1 e 3) apresentaram a melhor qualidade fisiológica das sementes. Não houve a possibilidade de observação de associação entre ausência ou presença de lipoxigenase e qualidade fisiológica de sementes por meio das variáveis estudadas.

5. SUMMARY

(SEED PHYSIOLOGICAL QUALITY AND ALDEHYDE PRODUCTION IN SOYBEAN LINES WITHOUT LIPOXYGENASE)

The physiological decay of soybean seeds under delayed harvest in lines without lipoxygenase (LOX) was evaluated. The study was carried out using the lines CR1 (without LOX1), CR2 (without LOX2), CR3 (without LOX3), CR1,3 (without LOX1 and 3), and the normal cultivars FT-Cristalina, Paranaíba and Doko. The seeds were harvested at the stage R8 and 10, 20 and 30 days later. The physiological quality of the seeds was evaluated by standard germination test, and accelerated aging test. Hexanal production was evaluated by head space gas chromatography and total aldehyde content, in pre-germinated seeds, by the MBTH method. CR3, CR1,3 and cultivars Cristalina and Doko presented higher seed quality. There was no possibility to observe association between presence or absence of lipoxygenase and seed physiological quality. Total aldehyde content determination showed to be more adequate as an index for seed physiological quality evaluation than hexanal content determination.

6. LITERATURA CITADA

1. BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. *Regras para análises de sementes*. Brasília, DF, 1992. 365p.
2. CASTRO, C.A. *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).
3. FEHR, W.R. & CAVINESS, C.E. *Stages of soybean development*. Ames, Iowa State University, Cooperative Extension Service, 1979. 12p.
4. GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. 13.ed. Piracicaba, ESALQ/USP, 1990. 468p.
5. KITAMURA, K. Biochemical of lipoxigenase mutants, L1-Less, L2 Less and L3 Less soybeans. *Agric. Biol. Chem.* 48(9): 2339-2346, 1984.
6. KRZYŻANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B. & HENNING, A.S. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. *Informativo ABRATES 1(2)*: 15-50. 1991.
7. 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).
8. RAMOS, V. *Comportamento de linhagens de soja com genes para ausência de lipoxigenases na produção de compostos de sabor desagradável*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1990. 54p. (Tese de M.S.).
9. 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).
10. 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(231)*: 438-444. 1993.
11. 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, 121p. 1979. (Tese de Mestrado).
12. 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(1):49-53. 1992.
13. WILSON J.R., D.O. & McDONALD J.R., M.B. A convenient volatile aldehyde assay for measuring seed vigour. *Seed Sci. Techn.* 14(2): 259-268. 1986.
14. WILSON J.R., D.O. & McDONALD Jr., M.B. The lipid peroxidation model of seed aging. *Seed Sci. Techn.* 14(2): 229-300. 1986.