

## QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE LINHAGENS DE SOJA SEM LIPOXIGENASES<sup>1</sup>

Telma Fallieri Nascimento Queiroz<sup>2</sup>  
Maurílio Alves Moreira<sup>2,3</sup>  
Carlos Siqueyuki Sedyama<sup>4</sup>  
Valterley Soares Rocha<sup>4</sup>

### RESUMO

Para avaliar possíveis alterações na qualidade fisiológica de sementes de soja, pela retirada das isoenzimas lipoxigenases (LOX 1, 2 e 3), foram feitas avaliações em linhagens, com ausência das mesmas, submetidas a retardamento de colheita no campo. Foram utilizadas sementes dos cultivares Cristalina, Doko e IAC-12 com ou sem LOX, colhidas em quatro épocas: no estágio R8 e com 15, 30 e 45 dias de retardamento no campo. Avaliou-se a qualidade fisiológica pelo teste de germinação e de envelhecimento acelerado. Foi realizado também o teste de sanidade de sementes. Os genótipos analisados, sendo materiais distintos, apresentaram comportamento diferenciado. A porcentagem de germinação das linhagens sem LOX foi inferior à dos cultivares com LOX, excetuando-se a linhagem Cristalina sem LOX, que foi superior. Tanto cultivares com LOX quanto linhagens sem LOX apresentaram perda de vigor com o retardamento de colheita, ressaltando-se que as linhagens sem LOX mostraram-se menos vigorosas. Houve maior incidência de fungos nas linhagens sem LOX. Os cultivares Cristalina, Doko com LOX ou sem elas e IAC-12 apresentaram grande ataque de fungos, o que, possivelmente, foi responsável por perdas no seu poder germinativo e no vigor das suas sementes.

Palavras-chaves: *Glycine max*, retardamento de colheita, sanidade das sementes.

---

<sup>1</sup> Parte da tese de M.S. do primeiro autor. Aceito para publicação em 08.05.2002.

<sup>2</sup> Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária – BIOAGRO/UFV. 36571-000 Viçosa, MG (Bolsista da CAPES). E-mail: ds36587@correio.ufv.br

<sup>3</sup> Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV. 36571-000 Viçosa, MG.

<sup>4</sup> Departamento de Fitotecnia da UFV 36571-000 Viçosa, MG.

**ABSTRACT****PHYSIOLOGICAL QUALITY OF SEEDS OF SOYBEAN LINES LACKING LIPOXYGENASE**

In tests aiming to observe possible changes in the physiological quality of soybean seeds by the removal of the lipoxygenase isoenzymes (LOX 1, 2 and 3), lines were evaluated with or without these lipoxygenases submitted to delayed harvest in the field. Seeds of cultivars Cristalina, Doko and IAC-12 and their lines lacking LOX were utilized. The seeds were harvested at the R8 stage and at 15, 30 and 45 days of harvest delay. The physiological quality was evaluated using the standard germination test and the accelerated aging test. A seed sanitary test was also carried out. Since they were distinct, the analyzed lines showed differentiated behavior. The germination percentage of lines lacking LOX was inferior to that of those having LOX, except for the cultivar Cristalina, which lacked LOX but was superior. Both lines, without and with LOX, showed vigour loss due to harvest delay. The lines lacking LOX were the least vigorous. There was a greater incidence of fungi in the lines lacking LOX. The cultivars Cristalina, Doko with and without LOX and IAC-12 showed a significant presence of fungi, what was possibly responsible for their loss in the germinating capacity and vigour.

Key words : *Glycine max*, delayed harvest, seed sanitary test.

**INTRODUÇÃO**

Nos últimos anos, houve expansão da cultura da soja em várias regiões do Brasil, devido ao seu potencial de uso na agroindústria, principalmente como fonte protéica. Esta expansão foi possível graças ao melhoramento genético, que criou variedades com alta produtividade e características agronômicas adaptadas às diversas regiões do País.

O Programa de Melhoramento de Soja da Universidade Federal de Viçosa, visando maior utilização desta leguminosa na alimentação humana e sementes de alta qualidade, desenvolveu linhagens com características organolépticas de melhor aceitação pela população. Nestas linhagens, eliminaram-se três isoenzimas lipoxigenases (LOX 1, 2 e 3), às quais é atribuído o sabor herbáceo.

As isoenzimas lipoxigenases (LOX) (linoleato oxigênio redutase, EC. 1.14.11.12) estão presentes em organismos eucarióticos. Elas catalisam a incorporação do oxigênio molecular em ácidos graxos que contêm o grupo cis,cis-1,4-pentadieno. O principal substrato para LOX em plantas são os ácidos linoléico (18:2) e linolênico (18:3). O ácido linolênico é geralmente o mais abundante ácido graxo em tecidos de plantas, exceto em alguns tecidos do embrião e das sementes, em que o linoléico é, na maioria das vezes, o ácido graxo predominante (11).

Outra função das isoenzimas LOX seria catalisar reações de cooxidação de pigmentos (oxidação secundária entre hidroperóxidos e pigmentos). A cooxidação se manifesta no branqueamento de pigmentos (carotenóides, clorofila etc.), também resultando na oxidação dos grupos SH de proteínas (10). Acredita-se também que elas estejam fisiologicamente envolvidas com crescimento e desenvolvimento, senescência e resposta a danos e resistência às pragas (9).

Em razão das condições adversas de clima e de armazenamento no Brasil, há grande perda no vigor e viabilidade das sementes de soja e, como são pouco conhecidos os fatores fisiológicos e genéticos envolvidos nessas perdas, tem-se procurado correlacionar algumas conseqüências bioquímicas da deterioração da semente com seu potencial germinativo e de vigor.

Como ainda não foi bem definido todo o papel desempenhado por essas enzimas na soja, este trabalho buscou avaliar a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja em cultivares normais e com ausência das lipoxigenases, submetidos ao retardamento de colheita.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido no Campo Experimental Professor Diogo Alves de Melo, no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia e em Laboratório do Núcleo de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais.

As sementes dos cultivares Doko, IAC-12, Cristalina e dos respectivos genótipos triplo-nulo (ausência das três lipoxigenases, LOX 1, 2 e 3) foram fornecidas pelo Núcleo de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO). As sementes triplo-nulo (TN) foram obtidas

de programa de retrocruzamento que visou introduzir ausência de lipoxigenases nos cultivares IAC-12, Doko e Cristalina. Para isso, foram realizados cinco ciclos de retrocruzamentos.

Na Figura 1 são apresentados os dados climáticos referentes ao período de 1<sup>o</sup>/04 a 30/06/99, no município de Viçosa-MG, correspondente ao período de colheita dos materiais analisados.

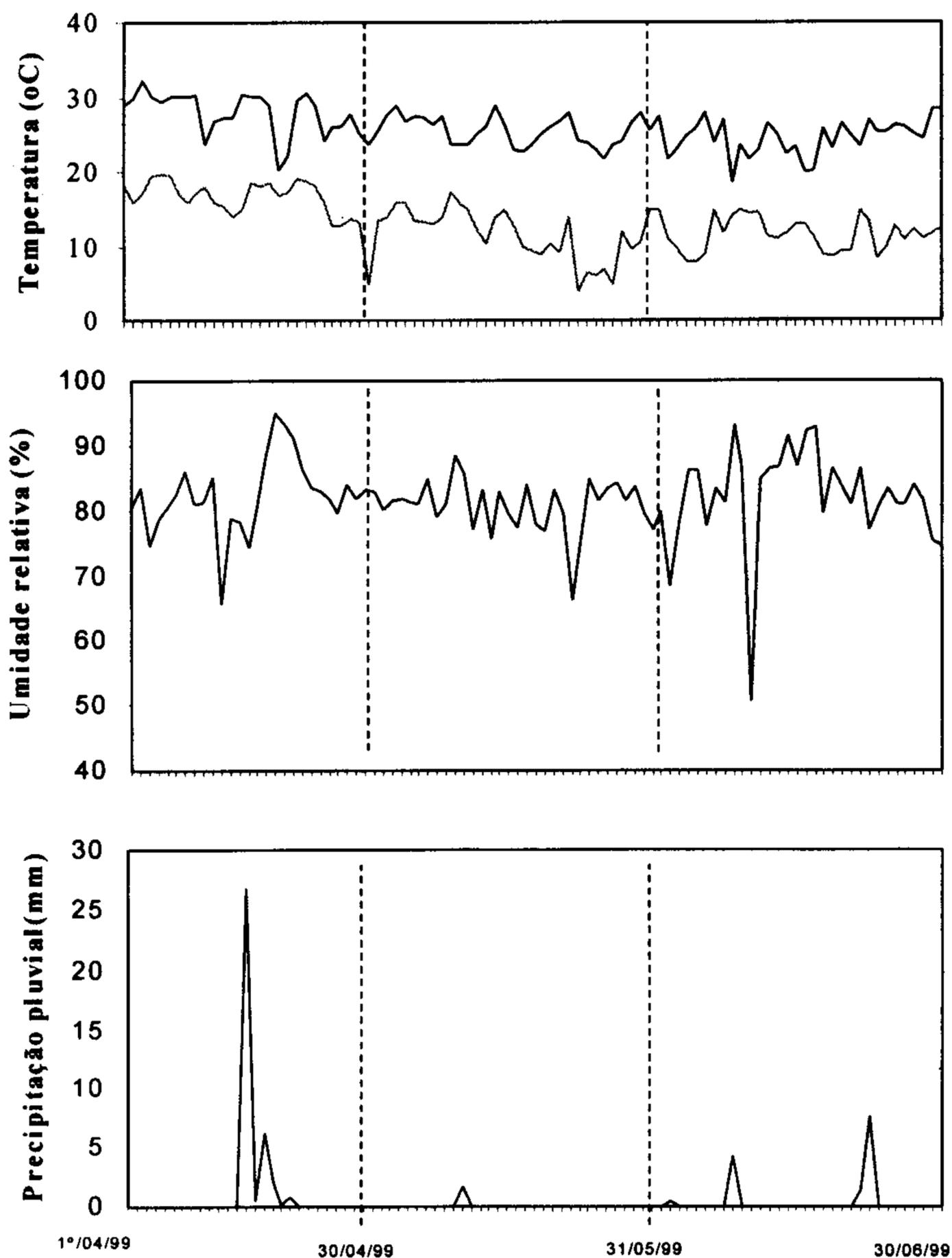
Em laboratório, as sementes foram analisadas quanto às características de qualidade fisiológica e sanitária, utilizando-se os testes de germinação, de envelhecimento acelerado e de sanidade.

Avaliou-se a germinação pelo teste de germinação, conforme descrito nas Regras para Análise de Sementes (1). No teste de envelhecimento acelerado, 250 sementes foram colocadas sobre uma tela metálica em caixas Gerbox com 40 ml de água desmineralizada no fundo (100% de umidade relativa). Em seguida, foram colocadas em estufas incubadoras a 41°C e mantidas por 48 horas, conforme Krzyzanowski (6). Após este período, foram colocadas para germinar de acordo com o teste de germinação.

No teste de sanidade utilizou-se o método do papel-filtro ("Blotter Test") para identificação de patógenos das sementes. Em caixas Gerbox, previamente lavadas com detergente e desinfetadas com hipoclorito de sódio 2%, foram colocadas seis folhas de papel-filtro autoclavadas embebidas em solução de água desmineralizada e tratadas com estreptomicina 100 mg/l. Sobre elas, em condições assépticas, foram colocadas 200 sementes de cada tratamento (conjunto de oito caixas Gerbox com 25 sementes). As sementes foram pré-tratadas com álcool 70% e hipoclorito de sódio 2% (40% de água sanitária + 60% de água destilada), durante um minuto cada uma, sendo em seguida lavadas com água desmineralizada e distribuídas de maneira equidistante nas caixas Gerbox. As sementes foram incubadas em laboratório por sete dias, segundo Henning (5). Após o crescimento e a esporulação dos patógenos, determinou-se o total de fungos.

O experimento foi conduzido em um delineamento experimental inteiramente casualizado, no esquema fatorial 3 x 2 x 4 (3 cultivares x 2 LOX (com ou sem) x 4 épocas de colheita), com quatro repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo os percentuais originários das contagens transformados em arco-seno  $(\%/100)^{1/2}$ , de acordo com Gomes (4).



IAC-12 (07/04) e IAC-12 – TN (06/04)  IAC-12 (22/05) e IAC-12 – TN (21/05)  
 DOKO e DOKO – TN (22/04)  DOKO e DOKO – TN (07/06)  
 CRISTALINA (07/05)  CRISTALINA (22/06)  
 CRISTALINA – TN (23/04)  CRISTALINA – TN (07/06)

FIGURA 1 - Dados diários de temperaturas máxima e mínima, umidade relativa do ar e precipitação pluvial, no período de 1º/04 a 30/06/99, e representação comparativa do período de colheita, a partir de R8 até R8+45, dos cultivares e linhagens estudados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A linhagem Cristalina sem LOX mostrou-se, em todas as épocas, com maior poder germinativo que o cultivar Cristalina. Já os cultivares Doko e IAC-12 tiveram melhor desempenho quanto à germinação do que as respectivas linhagens sem LOX (Figura 2).

Com o retardamento de colheita, tendeu-se a aumentar o número de plântulas anormais, o mesmo ocorrendo com o número de sementes mortas. Essas observações estão em conformidade, entre outros, com os resultados obtidos por Rezende (7), que ao analisar genótipos de soja submetidos a retardamento de colheita, constatou ser esse procedimento prejudicial à viabilidade e ao vigor deles.

O cultivar IAC-12, considerado precoce, atingiu a maturação antes dos demais e sofreu a ação da chuva nesse período (Figura 1), o que possivelmente foi a causa de seu desempenho germinativo inferior ao dos demais.

Todos os cultivares apresentaram perda no vigor após o envelhecimento. As linhagens sem LOX mostraram-se menos vigorosas que os cultivares com LOX (Figura 3), conforme constatado por Dias (3). O cultivar Doko apresentou características mais semelhantes e estáveis nos seus dois genótipos (com LOX ou sem elas) que os demais cultivares, na avaliação de sua qualidade fisiológica, pelos testes de germinação e vigor (envelhecimento acelerado).

O retardamento da colheita aumentou o total de fungos nas sementes dos genótipos analisados (Figura 4), como já observado por Dhingra et al.(2) e Rocha (8).

De modo geral, constatou-se que o cultivar IAC-12 e a linhagem IAC-12 sem LOX foram os que apresentaram maior incidência de fungos, em relação aos demais. Tal comportamento pode ter sido motivado pelas condições climáticas na época de maturação destes (Figura 1), enquanto, nessa fase, para outros cultivares e linhagens, não ocorreram chuvas.

As sementes dos cultivares Cristalina (com LOX ou sem elas) e IAC-12 (com LOX ou sem elas) apresentaram poucas diferenças entre si no aspecto sanitário, podendo-se notar desvantagem das linhagens sem LOX com maiores índices de infestação.

A linhagem Doko sem LOX não diferiu do cultivar Doko quanto à incidência de fungos, indicando serem similares com relação a essa característica.

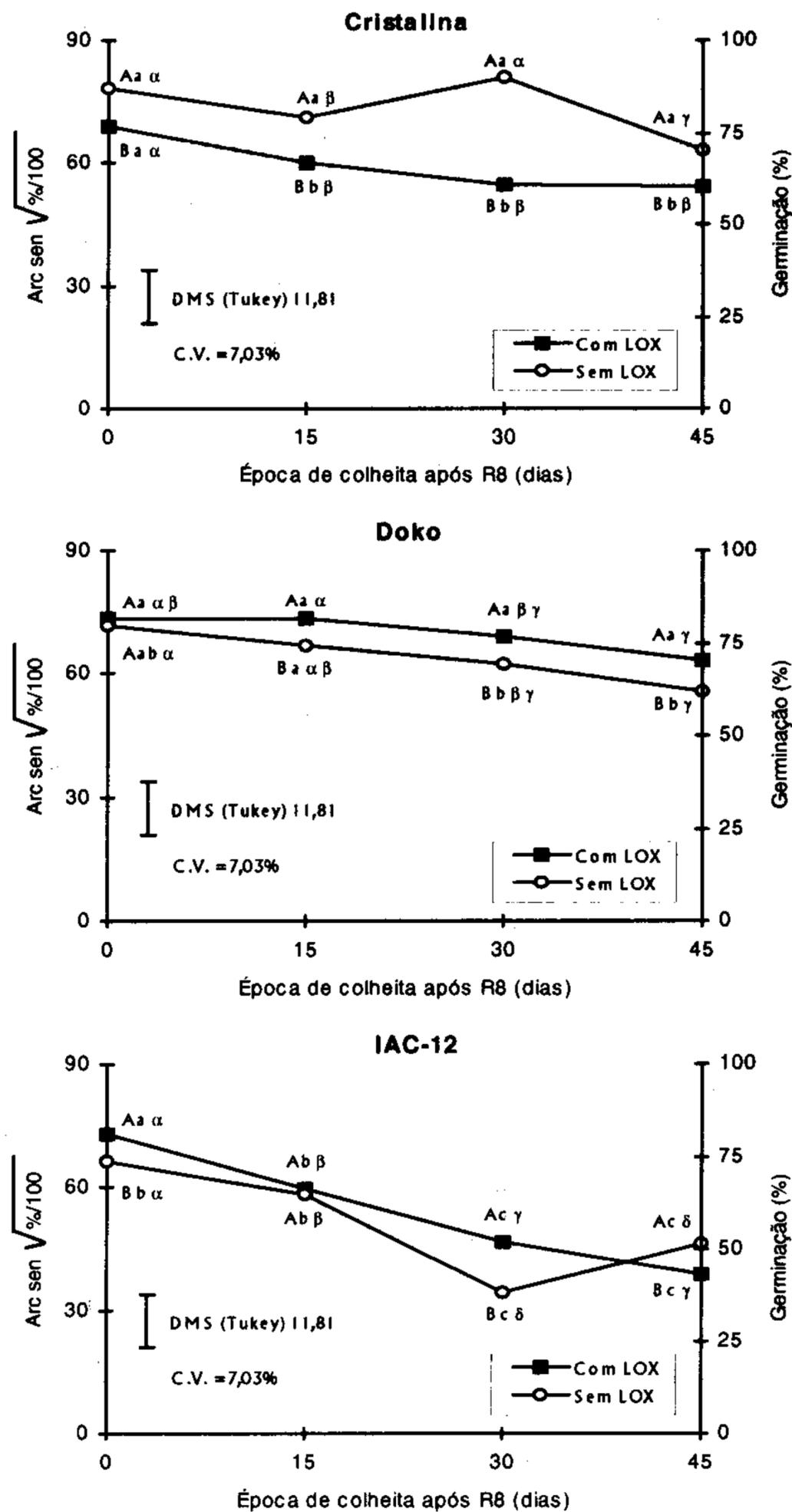


FIGURA 2 - Porcentagem de plântulas normais obtidas no teste de germinação de sementes de soja dos cultivares Cristalina, Doko e IAC-12, com LOX ou sem elas, em quatro épocas de colheita. As letras maiúsculas comparam presença e ausência de LOX em uma mesma época e cultivar, pelo teste F ( $P < 0,05$ ). As letras minúsculas comparam os três cultivares com LOX entre si, e as três linhagens sem LOX também entre si, dentro de cada época de colheita pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Letras gregas comparam diferentes épocas de colheita de um mesmo cultivar ou linhagem, pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

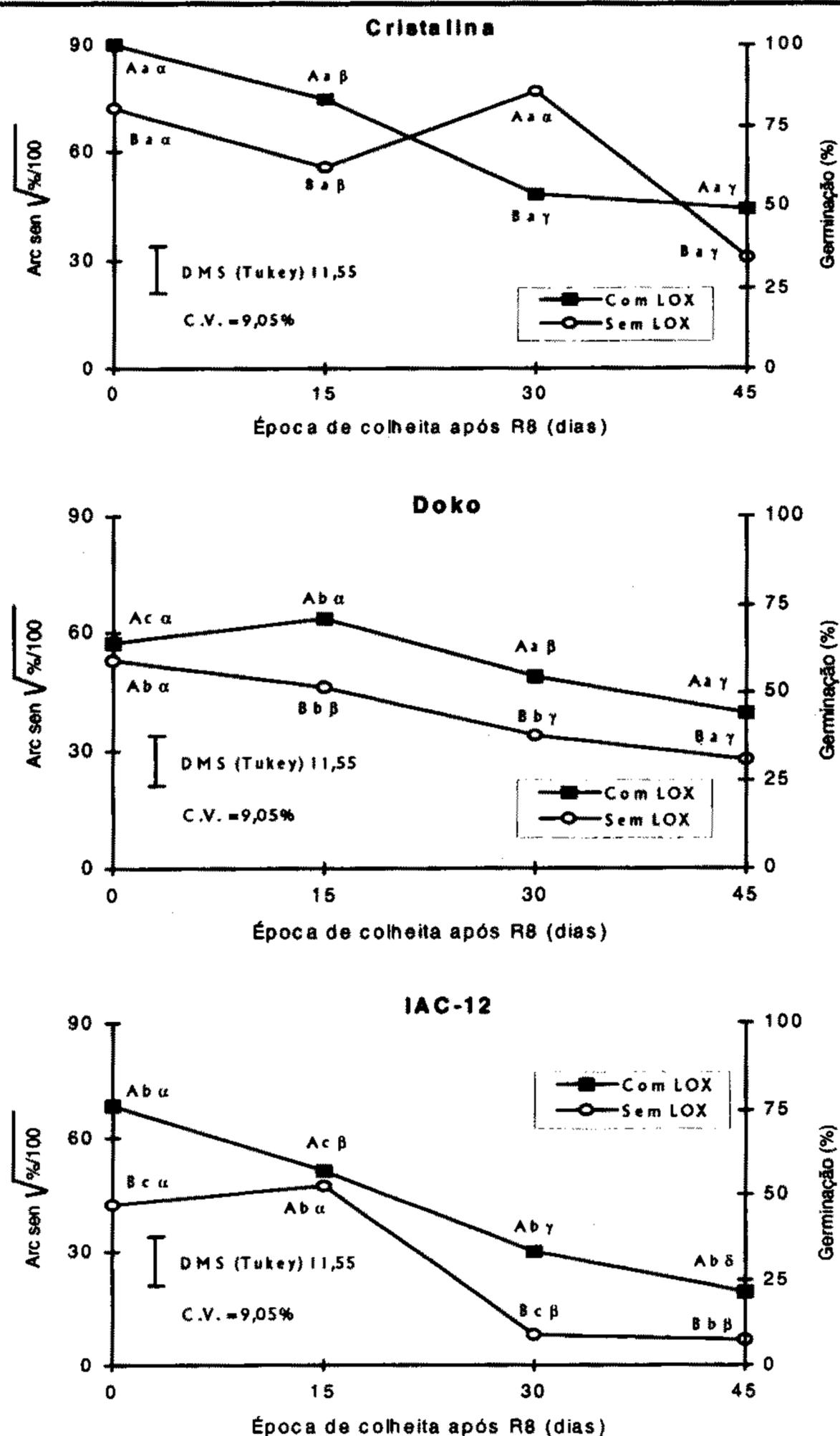


FIGURA 3 - Porcentagem de germinação após envelhecimento acelerado (vigor) dos cultivares Cristalina, Doko e IAC-12, com LOX ou sem elas, em quatro épocas de colheita. As letras maiúsculas comparam presença e ausência de LOX em uma mesma época e cultivar, pelo teste F ( $P < 0,05$ ). As letras minúsculas comparam os três cultivares com LOX entre si, e as três linhagens sem LOX também entre si, em cada época de colheita, pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Letras gregas comparam diferentes épocas de colheita de um mesmo cultivar ou linhagem, pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

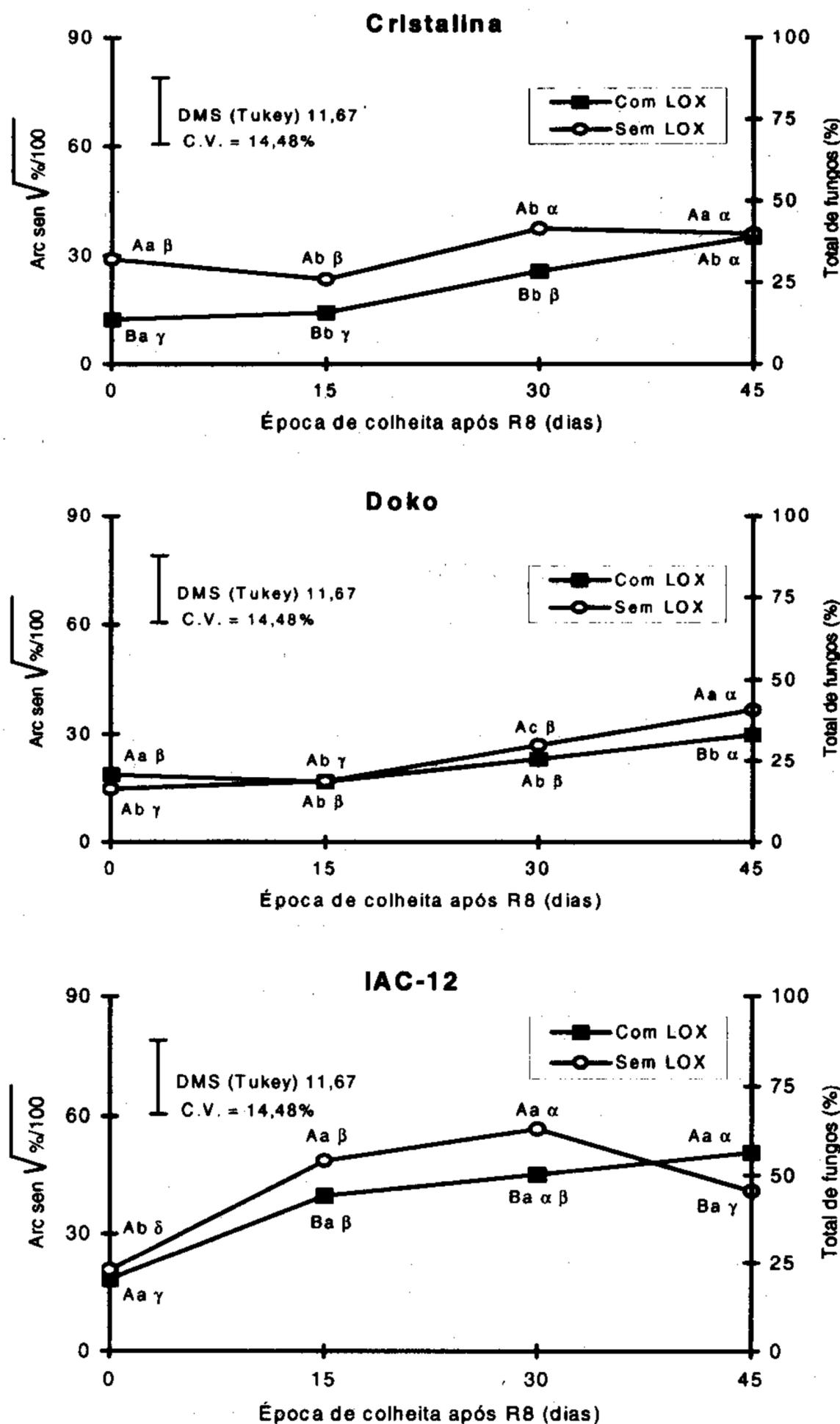


FIGURA 4 - Porcentagem total de fungos dos cultivares Cristalina, Doko e IAC-12, com LOX ou sem elas, em quatro épocas de colheita. As letras maiúsculas comparam presença e ausência de LOX em uma mesma época e cultivar, pelo teste F ( $P < 0,05$ ). As letras minúsculas comparam os três cultivares com LOX entre si, e as três linhagens sem LOX também entre si, em cada época de colheita pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Letras gregas comparam diferentes épocas de colheita de um mesmo cultivar ou linhagem, pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

## CONCLUSÕES

1) Os cultivares com LOX apresentam melhor qualidade fisiológica que as suas linhagens sem LOX.

2) O retardamento de colheita proporciona perda de vigor em todos os cultivares, independentemente da presença ou ausência de lipoxigenases.

3) As sementes triplo-nulo mostram-se menos vigorosas, com menor tolerância a altas temperaturas e umidade que as demais.

4) Há maior ataque de fungos nas linhagens sem LOX, com exceção da Doko.

## REFERÊNCIAS

1. BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Regras para análise de sementes. Brasília, 1992. 365p.
2. DHINGRA, O.D.; GARCIA, A. & SEDIYAMA, T. Effect of planting time on seed infection by *Phomopsis sojae* in ten soybean cultivars. *Fitopatologia Brasileira*, 4:435-40, 1979.
3. DIAS, A.C.P. Atividade de lipoxigenases durante a germinação e qualidade fisiológica de sementes de soja. Viçosa, UFV, 1999. 68p. (Tese de mestrado).
4. GOMES, F.P. Curso de estatística experimental. 13 ed. Piracicaba, ESALQ/USP, 1990. 468p.
5. HENNING, A.A. Testes de sanidade de sementes de soja. In: Soave, J. & Wetzel, M.M.V.S. (eds.). *Patologia de sementes*. Campinas, Fundação Cargill, 1987. p.441-53.
6. KRZYZANOWSKI, 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. REZENDE, J.C.F. Qualidade fisiológica e sanitária das sementes de variedades de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), em diferentes épocas de colheita e condições de armazenamento. Viçosa, UFV, 1993. 115p. (Tese de mestrado).
8. ROCHA, V.S. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de genótipos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em três épocas de colheita. Viçosa, UFV, 1982. 109p. (Tese de mestrado).
9. SANZ, L.C.; PÉREZ, A.G. & OLIAS, J.M. La lipoxigenasa en el reino vegetal: propiedades. *Información*, 43:231-9, 1992.
10. SIEDOW, J.N. Plant lipoxigenase: structure and function. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42:145-88, 1991.
11. TAWATHA, S.E.; TEKRONY, D.M. & HILDEBRAND, D.F. Lipoxigenase activity and C<sub>6</sub>-aldehyde formation in comparison to germination and vigor during soybean seed development. *Crop Science*, 33:1337-44, 1993.