

EFEITO DA ELIMINAÇÃO GENÉTICA DAS LIPOXIGENASES SOBRE A QUALIDADE FISIOLÓGICA DAS SEMENTES DE SOJA EM DIFERENTES ÉPOCAS DE SEMEADURA¹

Carlos Alberto Osório Martins²
Carlos Siguelyuki Sedyama³
Maria Goreti de Almeida Oliveira⁴
Valterley Soares Rocha³
Múcio Silva Reis³
Maurílio Alves Moreira⁴

RESUMO

O cultivo da soja, nos últimos anos, vem crescendo em vários países, inclusive no Brasil. Como as sementes dessa leguminosa contêm grandes quantidades de ácidos graxos polinsaturados, são bastante suscetíveis à deterioração. Em altos níveis de umidade, a atividade das lipoxigenases favorece o mecanismo alternativo de peroxidação dos lipídios na presença de oxigênio. O sabor de “feijão cru” tem sido um entrave ao consumo de derivados de soja, ao natural ou industrializado. Esse sabor é consequência de atividades das enzimas lipoxigenases (Lox1, Lox2 e Lox3). A eliminação pela manipulação genética dos alelos que codificam as enzimas lipoxigenases parece ser a maneira mais adequada de contornar os problemas associados ao sabor desagradável. Visando elucidar a participação da lipoxigenase nos processos determinantes da qualidade fisiológica de sementes, foi avaliada a germinação, o vigor no teste de envelhecimento acelerado e a emergência das plântulas em areia. Foram utilizadas linhagens contrastantes para lipoxigenases nas

¹ Aceito para publicação em 28.12.2004. Parte da dissertação de doutorado em Fitotecnia do primeiro autor. Financiada pelo PADCT/FINEP e pelo Bioagro/UFV.

² Eng^o Agr^o, bolsista da CAPES.

³ Eng^{os} Agr^{os}, doutores, professores do Departamento de Fitotecnia da UFV.

⁴ Licenciada e Bacharel em Química e Bioquímica e Eng^o Agr^o, doutores, professores do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFV. E-mail: csedyama@ufv.br

sementes, utilizando-se variedades normais de soja (FT-Cristalina RCH, Doko RC e IAC-12) que apresentam lipoxigenases nas sementes, e linhagens avançadas dessas variedades, apresentando presença (triplo positivas) ou ausência das três lipoxigenases (triplo nulas) nas sementes. A eliminação genética das três lipoxigenases das sementes das variedades FT-Cristalina RCH e Doko-RC não apresentou efeitos consistentes sobre a qualidade fisiológica de suas sementes, porém no caso da variedade IAC-12, verificou-se nítida desvantagem das sementes da linhagem triplo-nula em comparação às da linhagem triplo-positiva ou da variedade comercial. Devem existir genes importantes à qualidade fisiológica das sementes próximos aos genes que codificam as lipoxigenases, havendo necessidade de maior número de retrocruzamentos para recuperação do nível de qualidade fisiológica das sementes das variedades recorrentes.

Palavras-chave: semente, lipoxigenase, soja.

ABSTRACT

EFFECT OF THE GENETIC ELIMINATION OF LIPOXYGENASES ON THE PHYSIOLOGICAL QUALITY OF SOYBEAN SEEDS UNDER DIFFERENT SOWING DATES

Soybean cultivation has expanded in several countries, including Brazil. Soybean seeds contain a great amount of polyunsaturated fat acids and are susceptible to deterioration. In the presence of high humidity, lipoxigenase activity favors the alternative mechanism for lipid peroxidation in the presence of oxygen. The presence of beany off flavor limits the consumption of natural or industrialized soybean derivatives. The beany off flavor evolves from the action of lipoxigenase enzymes (Lox1, Lox2 and Lox3). The genetic elimination of the alleles that code these enzymes seems to be the most adequate way to solve the problems associated with this flavor. Aiming to elucidate the participation of lipoxigenases in the process regulating the physiological quality of seeds, germination, vigor and seedlings emergence test were assessed. Seeds from normal soybean varieties, namely FT-Cristalina RCH, Doko RC and IAC-12, which present lipoxigenases in their seeds, and advanced lines from these varieties containing all the three lipoxigenases (triple positive) or the complete absence of them (triple null) were studied. The genetic elimination of the three lipoxigenases from the seeds of FT-Cristalina RCH and Doko-RC varieties did not present consistent effects on the physiological quality of their seeds, but for IAC-12, there was a clear disadvantage of seeds from the triple-null line when compared to seeds from the triple-positive line or the commercial variety. Genes important to physiological quality the of the seeds may be present near the lipoxigenase loci, requiring a larger number of backcrosses to recover the level of physiological quality of the seeds of the recurrent varieties.

Key words: seeds, lipoxigenase, soybean.

INTRODUÇÃO

A cultura da soja vem se expandindo em vários países, com maior intensidade nas regiões de climas tropical e subtropical. Essa expansão se deve, principalmente, à produção de variedades melhoradas, às condições

favoráveis ao seu cultivo, ao seu potencial como matéria-prima para diversos produtos e à disponibilidade de sementes de boa qualidade fisiológica.

Quando a semente atinge a maturidade fisiológica, normalmente se inicia a perda de qualidade por processos de deterioração, levando à redução de seu potencial de germinação e vigor (6, 8, 10). A deterioração da semente envolve alterações fisiológicas, que culminam com a morte das sementes (3).

Sementes oleaginosas contêm grande quantidade de ácidos graxos polinsaturados, sendo mais suscetíveis à deterioração (1). Em condições de estresse hídrico, os lipídios estão sujeitos ao ataque direto, autocatalítico, por oxigênio atmosférico. Em altos níveis de umidade, a atividade de lipoxigenases favorece o mecanismo alternativo para o ataque dos lipídios pelo oxigênio (13).

Para melhorar as características organolépticas dos produtos protéicos derivados da soja, fator decisivo na sua aceitação por número maior de consumidores, pesquisadores estão removendo geneticamente as lipoxigenases das sementes, por meio de retrocruzamentos, produzindo linhagens altamente promissoras quanto a melhoria do sabor, qualidade industrial e produtividade de grãos.

Com a retirada das três lipoxigenases das sementes, há possibilidade de alteração da qualidade fisiológica destas, sendo, portanto, necessário verificar o comportamento dessas sementes desprovidas das isoenzimas lipoxigenases.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de isolinhas de soja, utilizando-se três variedades comerciais e as respectivas linhagens triplo nulas, apresentando presença ou ausência completa das três isoenzimas lipoxigenases nas sementes, em três épocas de semeadura.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no “Campus” da Universidade Federal de Viçosa (UFV), situado em Viçosa, Minas Gerais, no período de março de 1998 a setembro de 1999, com semeadura realizada no Campo Experimental “Prof. Diogo Alves de Mello”. As análises das sementes foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) e no Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia da UFV.

As variedades de soja estudadas foram FT-Cristalina RCH, Doko-RC e IAC-12, com as respectivas linhagens triplo-nulas, portadoras dos três pares de genes homozigotos recessivos que não codificam as respectivas lipoxigenases (designadas FT-Cristalina RCH TN, Doko-RC TN e IAC-12 TN) e as linhagens triplo-positivas, portadoras dos genes

homozigotos dominantes que codificam as respectivas lipoxigenases (designadas FT-Cristalina RCH TP, Doko-RC TP e IAC-12 TP). Essas linhagens foram obtidas por meio de retrocruzamentos, utilizando-se como progenitores não-recorrentes materiais introduzidos do Japão e dos Estados Unidos.

A seleção das sementes triplo-nulas e triplo-positivas foi realizada por meio de testes colorimétricos (11) e por meio da determinação da atividade de lipoxigenases (7), para confirmação dos genótipos. As variedades e linhagens foram, portanto, designadas FT-Cristalina RCH Comercial, FT-Cristalina RCH Triplo-Nula ($lx_1lx_1lx_2lx_2lx_3lx_3$) e FT-Cristalina RCH Triplo-Positiva ($Lx_1Lx_1Lx_2Lx_2Lx_3Lx_3$), com denominação análoga para as variedades Doko-RC e IAC-12.

As sementes selecionadas foram semeadas em casa de vegetação, no período de maio a junho de 1998. A colheita das sementes foi realizada manualmente nos meses de setembro e outubro do mesmo ano, para posterior semeadura no campo. Essa semeadura foi realizada em três épocas (27 de outubro, 18 de novembro e 14 de dezembro de 1998), em terreno preparado com araduras e gradagens, tendo sido aplicado o herbicida Boral, em pré-semeadura, na dosagem de 1 L/ha. Foram utilizados 400 kg/ha de adubo 4-14-8 no sulco de semeadura.

Em cada época plantaram-se, inteiramente ao acaso, 10 linhas de FT-Cristalina RCH Comercial, 10 linhas de FT-Cristalina RCH TP e 10 linhas de FT-Cristalina RCH TN. Para a Doko-RC e a IAC-12, foram plantadas oito e quatro linhas de cada material genético, respectivamente. Cada parcela experimental foi constituída de uma linha de 2,5 m de comprimento. As linhas foram espaçadas 0,70 m uma das outras, para minimizar a competição entre linhas, com densidade de cinco plantas por metro, sendo consideradas úteis as 10 plantas centrais da fileira. Foram realizadas três capinas manuais, irrigação quando necessário e controle de percevejo, por meio de duas aplicações de 30 mL de Endossulfam e 6 mL de espalhante adesivo, em 20 L de água, com pulverizador costal.

As plantas foram colhidas manualmente, no período de abril a julho de 1999, quando as plantas das parcelas atingiram o estágio de maturação R8 (5). As vagens foram contadas e debulhadas manualmente e as sementes foram armazenadas com 10 a 11% de umidade (base úmida) em câmara fria (4°C) e umidade relativa de 50 %, para posterior análise.

Na avaliação da qualidade das sementes foram analisadas as sementes de quatro linhas de cada material genético de cada variedade, constituindo as repetições de campo. No caso das variedades FT-Cristalina RCH e Doko-RC foram selecionadas as linhas de maior produtividade, enquanto no caso da variedade IAC-12 foram utilizadas as quatro isolinhas disponíveis.

Teste de germinação

Foram utilizadas quatro subamostras de 50 sementes, totalizando 200 sementes para cada repetição de campo de cada variedade ou linhagem com ou sem lipoxigenases. As sementes foram colocadas sobre duas folhas de papel toalha e cobertas com uma terceira folha, todas previamente umedecidas com água deionizada, à razão de 2,5 vezes o peso do papel toalha seco. Em seguida foram confeccionados rolos de papel contendo as sementes, que foram colocados em germinador regulado à temperatura de 25 °C. A contagem das plântulas foi realizada aos cinco e oito dias após a instalação do teste, sendo as avaliações efetuadas de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (2). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Teste de envelhecimento acelerado

De cada repetição de campo de cada variedade e respectivas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes foram colocadas 200 sementes sobre tela, adaptada em “ger box”(11 x 11 x 3,5 cm) contendo, no fundo, 40 mL de água deionizada. Duas folhas de papel toalha (germitest) foram fixadas na parte inferior da tampa de cada “gerbox” para absorção de possível condensação da água. Em seguida as caixas foram fechadas e lacradas com fita crepe para evitar perda ou troca de umidade, mantendo-se 100 % de umidade relativa no interior. As caixas foram transferidas para uma estufa incubadora, onde ficaram por 48 horas a 41°C e 100% de umidade relativa, conforme Kryzanowski et al. (6).

Após esse período as sementes foram distribuídas em quatro subamostras de 50 sementes, colocadas para germinar nas condições do teste de germinação. As avaliações foram realizadas no quinto dia após o início do teste, sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Teste de emergência em leito de areia

Este teste foi realizado em casa de vegetação, em bandejas de plástico (27 x 32 x 6 cm) contendo areia previamente lavada e esterilizada com brometo de metila, nas quais foram semeadas cinco subamostras de 40 sementes de cada repetição de campo de cada variedade e linhagem com ou sem lipoxigenases, em cinco sulcos por bandeja. Foram realizadas irrigações quando necessário, no período da manhã e da tarde.

As avaliações e contagens de plântulas normais foram feitas no décimo primeiro dia, quando a porcentagem de emergência se tornou constante. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas

normais emergidas, de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (2).

Análise estatística

Os dados das três épocas de semeadura (27/10, 18/11 e 14/12/1998) foram submetidos à análise de variância conjunta, seguindo-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições em cada época, com os tratamentos em fatorial 3 x 3, constituídos pela combinação das três variedades (FT-Cristalina RCH, Doko-RC e IAC-12) e dos três tipos de materiais genéticos (variedades comercial, linhagem triplo-nula e linhagem triplo-positiva). Aplicou-se o teste F e de Tukey adotando-se a significância no nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises de variância dos dados revelaram efeito significativo de variedades, do tipo de material genético (variedade comercial e linhagens com ou sem lipoxigenases), da época de semeadura e das interações entre essas três fontes de variação, em todas as variáveis analisadas. Esse fato é indicativo de que cada variedade apresenta sementes de qualidade fisiológica diferenciada, e a eliminação genética de lipoxigenases causa efeitos distintos sobre as sementes, conforme a época de semeadura.

Nos Quadros 1, 2 e 3 são apresentadas as médias das avaliações realizadas nas sementes de cada variedade e suas respectivas linhagens triplo-positivas ou triplo-nulas, nas diferentes épocas de semeadura. Os coeficientes de variação foram, respectivamente, 4,41, 4,38 e 3,93% para os dados de germinação, envelhecimento acelerado e emergência em leito de areia.

Na análise dentro de cada época de semeadura, considerando-se cada variedade, verifica-se que ocorreram diferenças significativas entre os materiais com e sem lipoxigenases nas sementes, nas variáveis utilizadas para mensurar a sua qualidade fisiológica. No caso da variedade FT-Cristalina RCH (Quadro 1) observa-se que, das nove comparações possíveis entre a variedade comercial e a linhagem triplo-nula, seis são desfavoráveis à triplo-nula, enquanto duas são favoráveis e uma não é significativa. Nas comparações entre a variedade comercial e a linhagem triplo-positiva verifica-se que, das nove comparações, seis são desfavoráveis à triplo-positiva e ocorrem três resultados não significativos. Finalmente, comparando-se a linhagem triplo-nula com a triplo-positiva, contam-se cinco comparações desfavoráveis à triplo-nula, duas favoráveis e duas semelhantes. Por outro lado, observa-se certa inversão de resultados

quando se comparam as médias obtidas no teste de germinação e no envelhecimento acelerado, com aqueles da emergência em leito de areia. Costa et al. (4) relatam que, pelo fato de o teste de emergência das plântulas ser conduzido em leito de areia, as plântulas teriam maior possibilidade de sobrevivência, pois durante a emergência os tegumentos são eliminados e evitam-se os contatos com os patógenos neles existentes. Em conseqüência, verifica-se que os resultados não mostraram consistência que permitisse afirmar que a retirada dos três genes que codificam as três lipoxigenases afetou negativa ou positivamente a qualidade fisiológica das sementes, entretanto indicam a necessidade de maior número de retrocruzamentos para a recuperação da característica original da variedade recorrente.

QUADRO 1 - Médias dos testes de germinação (TG), de emergência em leito de areia (ELA) e de envelhecimento acelerado (TEA), das sementes da variedade comercial de soja FT-Cristalina RCH e de suas linhagens com (triplo-positivas-TP) ou sem as três lipoxigenases (triplo-nulas-TN) nas sementes. Viçosa, MG, 2000^{1/}

Época de semeadura	Material genético	TG	ELA	TEA
		%		
27/10/98	FT-Cristalina RCH Com.	73,21 Ab	77,59 Bab	70,56 Ab
	FT-Cristalina RCH TP	66,71 Aa	77,35 Ba	59,69 Bb
	FT-Cristalina RCH TN	57,49 Ba	84,79 Aa	38,24 Ca
18/11/98	FT-Cristalina RCH Com.	79,84 Aab	81,44 Aa	75,92 Aab
	FT-Cristalina RCH TP	66,62 Ba	81,30 Aa	55,87 Bb
	FT-Cristalina RCH TN	60,25 Ba	86,10 Aa	44,04 Ca
14/12/98	FT-Cristalina RCH Com.	82,65 Aa	72,60 Bb	78,70 Aa
	FT-Cristalina RCH TP	72,91 Ba	64,62 Cb	68,45 Ba
	FT-Cristalina RCH TN	58,90 Ca	82,77 Aa	40,08 Ca

1/ Nas colunas, médias seguidas das mesmas letras maiúsculas dentro da mesma época de semeadura ou seguidas das mesmas letras minúsculas dentro do mesmo material genético não diferem, significativamente, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Utilizando-se a mesma estratégia de comparação das linhagens triplo-nulas com a variedade comercial ou com a linhagem triplo-positiva para se avaliar o efeito da ausência das três lipoxigenases nas sementes, para o caso da variedade Doko-RC (Quadro 2), verifica-se que das nove comparações das isolinhas triplo-nula com a variedade comercial, sete são desfavoráveis à triplo-nula, uma é favorável e uma não é significativa. Novamente, observa-se inversão de resultados do teste de germinação e do teste de envelhecimento acelerado, quando comparados com a emergência em leito de areia. Na comparação da variedade comercial com a linhagem triplo-positiva, verifica-se um resultado desfavorável para a triplo-positiva, um favorável e outros sete não significativos. Por sua vez, na comparação da triplo-nula com a triplo-positiva, seis são desfavoráveis à triplo-nula, uma favorável e dois são não significativos. Tal como na FT-Cristalina RCH, não se pode afirmar que a retirada das lipoxigenases afetou negativamente ou positivamente a qualidade fisiológica das sementes.

QUADRO 2 - Médias dos testes de germinação (TPG), de emergência em leito de areia (ELA) e de envelhecimento acelerado (TEA), das sementes da variedade comercial de soja Doko-RC e de suas linhagens com (triplo-positivas-TP) ou sem as três lipoxigenases (triplo-nulas-TN) nas sementes. Viçosa, MG, 2000^{1/}

Época de semeadura	Material genético	TG	%	
			ELA	TEA
27/10/98	Doko-RC Comercial	81,57 Aa	73,42 Bb	79,44 Aa
	Doko-RC TP	79,49 Aa	77,83 Bb	76,98 Aa
	Doko-RC TN	56,03 Ba	86,96 Aa	39,12 Ba
18/11/98	Doko-RC Comercial	86,14 Aa	87,32 Aa	83,67 Aa
	Doko-RC TP	84,00 Aa	87,32 Aa	80,06 Aa
	Doko-RC TN	56,03 Aa	86,97 Aa	39,12 Ba
14/12/98	Doko-RC Comercial	72,94 Ab	67,40 Bc	64,96 Ab
	Doko-RC TP	67,51 Ab	77,57 Ab	41,84 Bb
	Doko-RC TN	55,24 Ba	59,74 Cb	38,45 Ba

^{1/} Nas colunas, médias seguidas das mesmas letras maiúsculas dentro da mesma época de semeadura ou seguidas das mesmas letras minúsculas dentro do mesmo material genético não diferem, significativamente, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Para a variedade IAC-12 (Quadro 3), comparando-se a linhagem triplo-nula com a variedade comercial, observam-se oito resultados desfavoráveis à triplo-nula e um não significativo. Comparando-se a variedade comercial com a triplo-positiva, verificam-se dois resultados desfavoráveis para as linhagens triplo-positivas, três favoráveis e quatro não significativos. Finalmente, analisando as comparações entre a linhagem triplo-nula com a triplo-positiva, são contabilizados oito resultados desfavoráveis à triplo-nula e apenas um resultado semelhante. Nesse programa de retrocruzamentos, utilizando-se a variedade IAC-12, verifica-se nítida desvantagem das sementes da linhagem triplo-nula, indicando prejuízo da eliminação das três lipoxigenases das sementes.

QUADRO 3 - Médias dos testes de germinação (TG), de emergência em leito de areia (ELA) e de envelhecimento acelerado (TEA), das sementes da variedade comercial de soja IAC-12 e de suas linhagens com (triplo-positivas-TP) ou sem as três lipoxigenases (triplo-nulas-TN) nas sementes. Viçosa, MG, 2000 ^{1/}				
Época de semeadura	Material genético	TG	ELA	TEA
		%		
27/10/98	IAC-12 Comercial	83,33 Aa	61,39 Ab	80,31 Aa
	IAC-12 TP	84,69 Aa	52,94 Bc	84,00 Aa
	IAC-12 TN	71,08 Ba	51,29 Bb	60,08 Ba
18/11/98	IAC-12 Comercial	71,66 Bb	61,47 Bb	70,25 Bb
	IAC-12 TP	78,48 Ab	75,98 Aa	77,94 Ab
	IAC-12 TN	55,24 Cb	63,19 Ba	38,44 Cb
14/12/98	IAC-12 Comercial	78,40 Aa	74,96 Aa	79,63 Aa
	IAC-12 TP	84,80 Aa	63,15 Bb	81,50 Aab
	IAC-12 TN	71,08 Ba	51,29 Cb	60,08 Ba

^{1/} Nas colunas, médias seguidas das mesmas letras maiúsculas dentro da mesma época de semeadura ou seguidas das mesmas letras minúsculas dentro do mesmo material genético não diferem, significativamente, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Em consequência, considerando-se a existência de resultados contraditórios quando se comparam os retrocruzamentos realizados com as

três variedades, pode-se inferir que devem existir genes importantes à qualidade fisiológica das sementes de soja localizados próximos aos genes que codificam as lipoxigenases. Esse fato indica que o trabalho de retrocruzamento deve ser continuado, visando a recuperação desses genes perdidos pelos progenitores recorrentes, principalmente no caso da variedade IAC-12.

Taketa (12), estudando linhagens triplo-nulas desse mesmo programa de melhoramento de soja para consumo humano, obteve resultados que evidenciam que há linhagens triplo-nulas com desempenho produtivo equivalente ao das variedades comerciais e com boa qualidade fisiológica de sementes. Sedyama et al. (9), estudando linhagens com ausência de lipoxigenases, encontraram maior vigor naquelas com ausência da lipoxigenase 3.

Esses resultados corroboram o estabelecimento da hipótese de que diferentes genes da qualidade fisiológica das sementes estão envolvidos nas três variedades estudadas, o que possibilitaria a maior ou menor perda desses genes nos retrocruzamentos, realizados com o objetivo de incorporar os genes da ausência de lipoxigenases nas sementes.

CONCLUSÕES

A eliminação genética das três lipoxigenases das sementes das variedades FT-Cristalina RCH e Doko-RC não apresentou efeitos consistentes sobre a qualidade fisiológica de suas sementes, porém no caso da variedade IAC-12, verificou-se nítida desvantagem das sementes da linhagem triplo-nula em comparação às da linhagem triplo-positiva ou da variedade comercial.

Devem existir genes importantes à qualidade fisiológica das sementes próximos aos genes que codificam as lipoxigenases, havendo necessidade de maior número de retrocruzamentos para recuperação do nível de qualidade fisiológica das sementes das variedades recorrentes.

REFERÊNCIAS

1. BEWLEY, D.J. & BLACK, M. Seeds: physiology of development and germination. 2ª ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
2. BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Regras para análise de sementes. Brasília, DF: 1992. 365 p.
3. CARVALHO, N.M. & NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4.ed. Jaboticabal, SP: Funep, 2000. 588p.
4. COSTA, N.P.; MESQUITA, C.M.; MAURINA, C.M.; BORDIGNON, J.R.; MANDARINO, J.M.G.; FRANÇA NETO, J.B.; KRYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. & PEREIRA, J.E. Avaliação e controle de qualidade de sementes e grãos de soja produzidos no Brasil, na safra 1998/1999. In: Reunião de Pesquisa de Soja da Região

- Central do Brasil, 22., Londrina. Resumo... Londrina, PR: EMBRAPA-CNPSO, 2000. p. 207.
5. FEHR, W.R. Breeding. In: NORMAN, A.G. (Ed.). Soybean physiology, agronomy, and utilization. New York: Academic Press, 1978. p. 119-55.
 6. KRYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D. & FRANÇA NETTO, J.B. (Coord.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999.
 7. OLIVEIRA, D.A.; PIOVESAN, N.D.; MORAES, R.M.A.; ROCHEBOIS, G.B.; OLIVEIRA, M.G.A.; BARROS, E.G. & MOREIRA, M.A. Identification of the three genotypic classes for soybean lipoxygenases 1 and 3 based on enzymatic activity. *Biotechnology Techniques*, 12(1):71-4, 1998.
 8. SEDIYAMA, C.S.; VIEIRA, C.; SEDIYAMA, T.; CARDOSO, A.A. & ESTEVÃO, M.M. Influência do retardamento da colheita sobre a deiscência das vagens e sobre a qualidade e poder germinativo das sementes da soja. *Experientiae*, 14(5):117-41, 1972.
 9. SEDIYAMA, C.S.; QUEIROZ, L.R.; MOREIRA, M.A. & REZENDE, S.T. Aldehyde production and physiological quality of soybean seeds lacking lipoxygenase isozymes. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, V, Chiang Mai. Proceedings... (Supplement), Bangkok: Kasetsart Univ. Press, 1998. p. 441-6.
 10. SEDIYAMA, T.; ALMEIDA, L.A.; MIYASAKA, S. & KIIHL, R.A.S. Genética e Melhoramento. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. (Eds.). A soja no Brasil. Campinas, SP: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1981. p. 209-25.
 11. SUDA, I.; HAJIKA, M.; NISHIBA, Y.; FURUTA, E. & IGITA, K. Simple and rapid method for the selective detection of individual lipoxygenase isozymes in soybean seeds. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 43(3):742-7, 1995.
 12. TAKETA, S.T. Comportamento da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com ausência de três isoenzimas lipoxigenases, em diferentes épocas de plantio, em duas localidades de Minas Gerais. Viçosa, MG. Universidade Federal de Viçosa. 2000. 69f. (Dissertação de mestrado).
 13. VICK, B.A. & ZIMMERMAN, D.C. Lipoxygenase and hydroperoxide lyase in germinating watermelon seedling. *Plant Physiology*, 57(5):780-8, 1976.