

LIBERAÇÃO DO ALDEÍDO N-HEXANAL, COMO ÍNDICE PARA ESTIMAR O VIGOR DE SEMENTES DE SOJA ^{1/}

Carlos Arturo Silva Castro ^{2/}
Carlos Sigueyuki Sedyama ^{3/}
Maurílio Alves Moreira ^{4/}
Roberto Ferreira da Silva ^{3/}
Sebastião Tavares de Rezende ^{4/}
Tuneo Sedyama ^{3/}
Valterley Soares Rocha ^{3/}

1. INTRODUÇÃO

A avaliação da qualidade fisiológica das sementes sempre mereceu a atenção dos pesquisadores, fato reconhecido por diversos autores (9, 13, 19, 4).

O teste de germinação, feito em condições de laboratório, é, ainda, a principal maneira de avaliar a capacidade das sementes para produzir plântulas normais no campo. Entretanto, nem sempre revela diferenças entre a qualidade fisiológica e o nível de rendimento de lotes no armazenamento ou no campo (8). 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.

O teste de envelhecimento rápido (3) e a determinação do comprimento do hipocótilo das plântulas normais (2), da velocidade de emergência das plântulas no campo (16) e da porcentagem de emergência das plântulas no campo (15) são

^{1/} Trabalho parcialmente financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico — CNPq.

Aceito para publicação em 1.º-06-1988.

^{2/} Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. Apartado Aéreo 7984. Bogotá, Colômbia.

^{3/} Departamento de Fitotecnia da U.F.V. 36570 Viçosa, MG.

^{4/} Departamento de Química da U.F.V. 36570 Viçosa, MG.

alguns dos métodos para avaliar o vigor das sementes que envolvem a germinação.

Por outro lado, há referências bibliográficas ao uso de testes bioquímicos ou físico-químicos. Assim, várias pesquisas feitas com soja incluíram o teste de tetrazólio (7, 12, 20).

Outro método, o teste de condutividade elétrica, baseia-se no princípio de que, durante o processo de deterioração, ocorre a lixiviação de constituintes celulares em sementes embebidas em água, devido à perda da integridade do sistema de membranas celulares (6, 11).

Recentemente, tem-se verificado associação entre a produção de aldeídos voláteis, liberados durante as fases iniciais da germinação, e o baixo vigor de sementes de soja e ervilha. Um mecanismo de envelhecimento, resultante da peroxidação de lipídios, incluindo a degradação da biomembrana, a desnaturação de proteínas, a interferência na síntese de proteínas e DNA, a acumulação de substâncias tóxicas e a destruição do sistema de transporte de elétrons, tem sido proposto para explicar a deterioração das sementes (18). Por sua vez, os aldeídos produzidos pelas sementes durante a embebição e período inicial de germinação são considerados produtos da peroxidação de lipídios.

WILSON e McDONALD (17) determinaram colorimetricamente a quantidade de aldeídos voláteis liberados durante a germinação das sementes, utilizando o reagente 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (MBTH), e demonstraram a ocorrência de correlação negativa com o vigor das sementes.

Com o presente trabalho objetivou-se estabelecer a associação entre a liberação do aldeído n-hexanal e o vigor de sementes de soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Sementes

O trabalho foi conduzido nos Laboratórios de Sementes e de Bioquímica da Universidade Federal de Viçosa e constou do estudo do vigor de sementes de soja (*Glycine max.* (L.) Merrill) do cultivar Doko, provenientes de ensaios conduzidos no ano agrícola de 1986/87 e correspondentes a quatro diferentes épocas de colheita (R8, R8 + 15 dias, R8 + 30 dias e R8 + 45 dias), sendo R8 o estágio de maturação plena, para obter lotes com diferentes níveis de vigor. Os quatro lotes de sementes permaneceram armazenados, em condições de laboratório, até outubro, quando o material foi amostrado e submetido aos testes de germinação e vigor.

2.2. Testes de Germinação e Vigor

Germinação — Quatro subamostras de 50 sementes foram colocadas em germinador, com temperatura constante de $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, tendo papel germiteste como substrato. As contagens foram feitas aos quatro e oito dias após a semeadura, segundo as Regras para Análise de Sementes (1).

Comprimento do Hipocótilo — Quatro subamostras, de 20 sementes de cada lote, foram distribuídas, em linhas retas, no terço superior de papel germiteste, previamente umedecido. As sementes tiveram o hilo voltado para a extremidade superior do substrato (2). Os rolos de papel germiteste, no germinador, foram cobertos com plástico preto, em condições semelhantes às descritas para a germinação. Quatro dias depois foi determinado o comprimento do hipocótilo, em milímetros. Para calcular o comprimento médio do hipocótilo, multiplicaram-se as mé-

dias do comprimento pela porcentagem de plântulas normais, dividindo-se por 100 (8).

Condutividade Elétrica — Utilizaram-se quatro repetições de 25 sementes de cada lote, as quais, após a pesagem, em centigramas, foram colocadas no interior de copos plásticos. Foram adicionados 100 ml da água desionizada a cada copo, permanecendo as sementes imersas em germinador, a 20°C, durante 24 horas. Decorrido esse período, a condutividade foi avaliada, em uma ponte de condutividade «Yellow Spring», modelo 31, sendo os resultados expressos em $\mu\text{mhos/g}$ de sementes (10).

2.3. Determinação do n-Hexanal

Pré-Condicionamento das Sementes — As sementes foram embebidas em água desionizada, por dois minutos, para provocar o amolecimento e ativação do sistema enzimático. Após esse período, foram tiradas da água e postas para secar ao ambiente, sobre papel-toalha, por 10 minutos. Em seguida, foram moídas, e quatro subamostras, de três gramas de farinha de soja, foram colocadas em recipientes de vidro, tipo penicilina, com tampa de borracha. Decorridos 15 minutos do início da moagem, os recipientes, com a farinha, foram colocados no «freezer», à espera da análise do aldeído, por cromatografia gasosa.

Análise do n-Hexanal por Cromatografia Gasosa — Utilizou-se a técnica de cromatografia gasosa por «head-space», adaptada por REZENDE (14). Os recipientes, com os três gramas de farinha, foram tirados do «freezer», um a um, tendo sido adicionados a eles 18 ml de NaOH 0,5N, para a inativação enzimática. Agitou-se a mistura por cinco minutos e, logo após, com o auxílio de uma seringa, colocaram-se 3 ml de HCl 9N, deixando-se mais cinco minutos sob agitação, para maior liberação do n-hexanal. Em seguida, a mistura foi incubada em estufa, a 150°C, por 22 minutos, após o que foi coletado 1 ml dos gases liberados, com seringa previamente aquecida, que foram injetados no cromatógrafo Varian, modelo 3740. A área dos picos, descrita no cromatograma, foi calculada geometricamente e expressa em mm^2 .

Foi utilizada, na separação e análise do n-hexanal, coluna de 5% de triton X-305, de teflon, com 10 pés de comprimento e 1/8 de polegada de diâmetro.

As condições de análise foram as seguintes: temperatura da coluna, 105°C; temperaturas do injetor e do detector de ionização de chama, 180°C e 250°C, respectivamente; fluxo dos gases, 30 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ para o gás de arraste (N_2), 30 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ para o hidrogênio e 300 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ para o ar sintético.

2.4. Métodos Estatísticos

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado. Compararam-se as médias, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. As correlações entre a produção do aldeído n-hexanal e os métodos de avaliação da qualidade fisiológica da semente foram estimadas pelo coeficiente de Pearson (r), tomando-se as médias das quatro épocas de colheita. A significância dos valores de r foi determinada pelo teste t, a 5% e 1% de probabilidade. Para as análises estatísticas do teste de germinação, os dados foram previamente transformados em $\text{arc sen} \sqrt{\bar{X}}$, sendo x o valor percentual (5).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios obtidos na determinação do aldeído n-hexanal e nos testes de germinação, comprimento do hipocótilo e condutividade acham-se no Quadro 1.

Os resultados dos testes possibilitaram diferenciar os níveis de qualidade fisiológica das sementes colhidas em quatro épocas diferentes.

O teste-padrão de germinação possibilitou diferenciação nítida da capacidade de germinação dos quatro lotes de semente. Entretanto, as medições de vigor, baseadas no comprimento do hipocótilo e na condutividade dos lixiviados celulares, deram menor discriminação dos tratamentos (Quadro 1). A determinação da produção de n-hexanal nas sementes revelou níveis cada vez mais crescentes desse aldeído de uma época para outra (Figura 1). O conteúdo de aldeído permitiu diferenciação significativa, quanto à qualidade, das sementes das diferentes épocas, com exceção das épocas dois e três, que não foram diferentes estatisticamente.

Para todas as épocas de colheita, houve correlação significativa entre o n-hexanal detectado e os métodos de avaliação da qualidade da semente (Quadro 2).

Esses resultados indicaram que sementes de soja de qualidade inferior produziram, consistentemente, maior quantidade do aldeído durante a embebição. Os testes de comprimento do hipocótilo e condutividade elétrica foram adequados para a predição do vigor das sementes, e a correlação ($P < 0,05$) com a produção de n-hexanal ($r = -0,96$ e $r = 0,95$, respectivamente) sugere que a medida do aldeído n-hexanal em sementes embebidas pode ser um método promissor para avaliar o vigor das sementes de soja.

Resultados semelhantes foram obtidos por WILSON e McDONALD (17), que associaram a evolução de aldeídos voláteis com a deterioração das sementes. Do mesmo modo, concluíram que o nível de aldeídos liberados no início do processo germinativo pode ser fator efetivo para a predição do vigor de um lote de sementes de soja.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) do cultivar Doko, colhidas em quatro épocas a partir do estágio R8, a intervalos de 15 dias, foram analisadas, procurando-se estabelecer uma correlação entre o seu vigor e a liberação do aldeído n-hexanal. Após a embebição das sementes em água desionizada por um período de dois minutos, foi determinado o conteúdo de n-hexanal, nas farinhas derivadas pela técnica de cromatografia gasosa por «head space».

Os resultados indicaram que sementes de qualidade inferior produziram, consistentemente, maior quantidade do aldeído. A correlação obtida ($P < 0,05$) entre os testes de comprimento do hipocótilo e condutividade elétrica e a produção de n-hexanal ($r = -0,96$ e $r = 0,95$, respectivamente) sugere que a determinação do aldeído n-hexanal em sementes embebidas pode ser um método promissor para avaliar o vigor das sementes de soja.

5. SUMMARY

(LIBERATION OF N-HEXANAL ALDEHYDE AS AN INDICATOR FOR EVALUATING SOYBEAN SEED VIGOR)

N-Hexanal production in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seed was examined

QUADRO 1 - Comparação entre médias da produção do aldeído n-hexanal e testes de avaliação da qualidade de sementes de soja, para quatro épocas de colheita do cultivar Doko. Viçosa, MG, 1987

Época de colheita	Nível do aldeído n-hexanal (mm ²)	Método de avaliação da qualidade das sementes		
		Germinação (%)	Comprimento do hipocótilo (mm)	Condutividade elétrica (µmhos/g semente)
R8	29,00 a*	92,00 a	63,96 a	50,90 a
R8 + 15 dias	92,00 b	83,00 b	56,20 a	58,93 ab
R8 + 30 dias	119,50 b	67,5 c	44,17 b	64,22 b
R8 + 45 dias	181,50 c	25,5 d	18,31 c	65,96 b
Média	105,50	67,00	45,66	59,99
C.V. (%)	23,00	3,90	8,60	9,62

* Médias seguidas de letras iguais, na coluna, não diferem significativamente, pelo teste de Tukey (p<0,05).

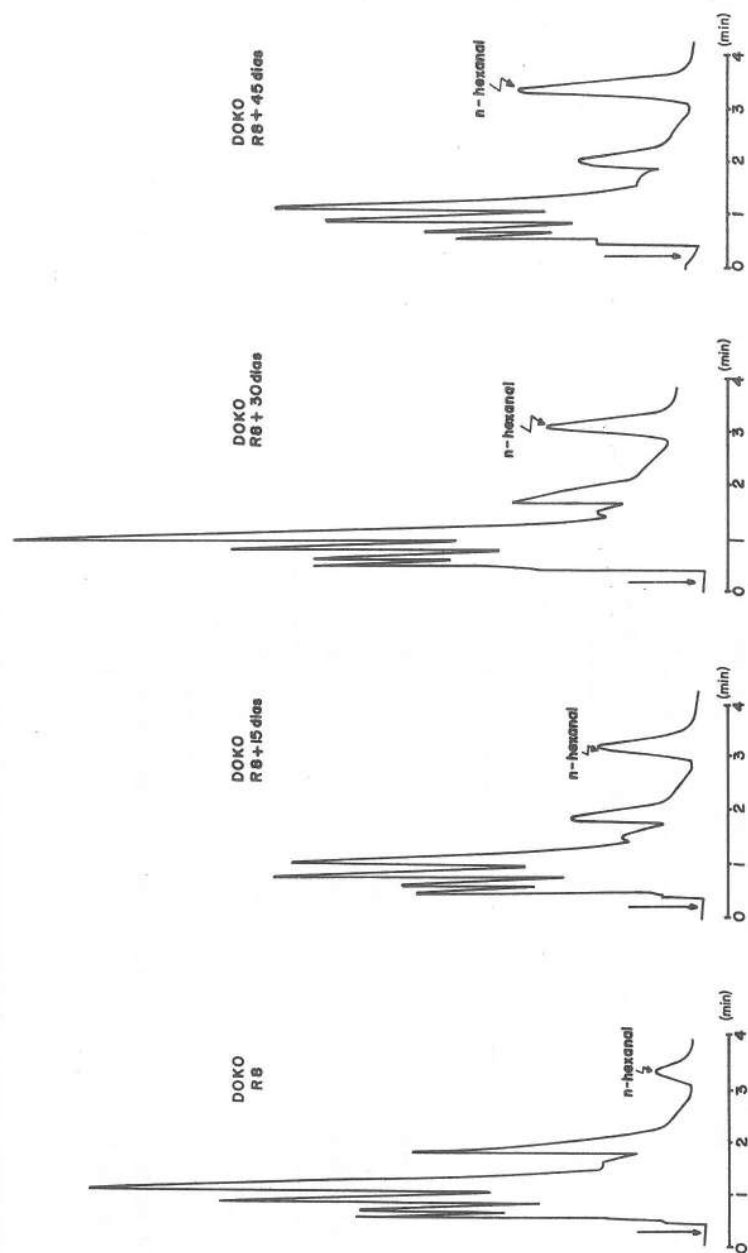


FIGURA 1 - Cromatogramas representativos da produção de n-hexanal em sementes de soja, cultivar Doko, colhidos em quatro épocas diferentes. Viçosa, MG, 1987.

QUADRO 2 - Coeficientes de correlação simples (r) entre produção do aldeído n-hexanal e testes de germinação, comprimento do hipocótilo e condutividade elétrica, para quatro épocas de colheita do cultivar Doko. Viçosa, MG, 1987

	Padrão de germinação (%)	Comprimento do hipocótilo (mm)	Condutividade elétrica (µmhos/g de semente)
Produção de n-hexanal (mm ²)	- 0,96*	- 0,96*	0,95*
Padrão de germinação (%)		0,99**	- 0,85 ^{n.s.}
Comprimento do hipocótilo (mm)			- 0,85 ^{n.s.}

* Significativo, ao nível de 5% de probabilidade.

** Significativo, ao nível de 1% de probabilidade.

for its ability to indicate loss of seed viability and vigor. Four Doko cultivar soybean seed lots, harvested at 15-day intervals after attainment of R_g stage, were tested for n-hexanal production and loss of seed vigor. The seeds were immersed in de-ionized water for a period of 2 minutes and n-hexanal levels were analyzed in the soy flours by gas chromatography. The data presented here demonstrate, for the first time, a highly significant correlation ($P < 0.05$) between the amount of n-hexanal produced in the soy flour with loss of seed vigor as determined by hypocotyl ($r = -0.96$) size measurements and electric conductivity ($r = 0.95$) tests. The results suggest that n-hexanal levels as determined could be a very convenient method for evaluating soybean seed vigor.

6. LITERATURA CITADA

1. BRASIL. Ministério da Agricultura. *Regras para Análise de Sementes*. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. s.l., 1980. 199 p.
2. BURRIS, J.S. & FEHR, W.R. Methods of evaluation of soybean hypocotyl length. *Crop Sci.*, 11:116-117. 1971.
3. DELOUCHE, J.C. & BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Sci. and Technol.* 1:427-452. 1973.
4. DELOUCHE, J.C. Maintaining soybean seed quality. In: Delouche, J.C. *Soybean production, marketing and use*. s.l., Tenn. Valley Auth., 1974. p. 46-62 (Bull. 69).
5. GOMES, P. *Curso de estatística experimental*. Piracicaba, Nobel, 1985. 466 p.
6. HEPBURN, H.A.; POWELL, A. & MATTHEWS, S. Problems associated with the routine application of electrical conductivity measurements of individual seeds in the germination testing of peas and soybean. *Seed Sci. Technol.* 12(2): 403-406. 1984.
7. KULIK, M.N. & YAKLICH, R.W. Evaluation of vigor tests in soybean seeds: Relation of accelerated aging, cold, sand bench and speed of germination tests to field performance. *Crop Sci.* 22: 766-770. 1982.
8. MARCOS FILHO, J. Qualidade fisiológica de sementes de soja, cultivares Bragg e UFV-1, e comportamento das plantas no campo. *Pesq. Agropec. Bras.*, 16: 405-415. 1981.
9. MARCOS FILHO, J.; PESCARIN, H.; KOMATSU, Y.; DEMETRIO C. & FANCELLI, A. Testes para avaliação do vigor de sementes de soja e suas relações com a emergência das plântulas em campo. *Pesq. Agropec. Bras.*, 19: 605-613. 1984.
10. MARCOS FILHO, J.; CICEREO, S.M. & SILVA, W.R. da. *Avaliação da qualidade das sementes*. Piracicaba, FEALQ, 1987. 230 p.
11. OLIVERA, L.; MATTHEWS, S. & POWELL, A.A. The role of slit seed coat in determining seed vigor in commercial seed lots of soybean, as measured by the electrical conductivity test. *Seed Sci., Technol.* 12:659-665. 1984.

12. PEREIRA, L.A.G. & ANDREWS, C.H. Comparação de alguns testes de vigor para avaliação da qualidade de sementes de soja. *Sementes* 2(2): 15-25. 1976.
13. PERRY, D.A. Seed vigour and field establishment. *Hort. Abstr.*, 42:334-342. 1972.
14. REZENDE, S.T. *Efeitos da eliminação genética das lipoxigenases L₁ e L₃ e de características físicas no teor de n-hexanal em grãos de soja*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1986. 41p. (Tese M.S.).
15. SINGH, B.B. & GUPTA, D.P. Seed quality in relation to harvesting at physiological maturity in soybean. *Seed Sci. Technol.* 10: 469-474. 1982.
16. TEKRONY, D.M. & EGLI, D.E. Relationship between laboratory indices of soybean seed vigor and field emergence. *Crop Sci.* 17: 573-577. 1977.
17. WILSON, D.O. Jr. & McDONALD, M.B. Jr. A convenient volatile aldehyde assay for measuring seed vigour. *Seed Sci. Technol.* 14: 259-268. 1986.
18. WILSON, D.O. Jr. & McDONALD, M.B. Jr. The lipid peroxidation model of seed aging. *Seed Sci. Technol.* 14: 269-300. 1986.
19. WOODSTOCK, L.W. Physiological and Biochemical test for seed vigor. *Seed Sci. Technol.* 1: 127-157. 1973.
20. YAKLICH, R.W. Evaluation of vigor test in soybean seed. *Crop Sci.* 19: 806-810. 1979.