

## RETARDAMENTO DE COLHEITA COMO MÉTODO DE DIFERENCIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA PARA QUALIDADE DE SEMENTES<sup>1</sup>

WANDERLEI ANTÔNIO ALVES DE LIMA<sup>2</sup>, ALUÍZIO BORÉM<sup>3</sup>, DENISE CUNHA FERNANDES SANTOS DIAS<sup>3</sup>, MAURÍLIO ALVES MOREIRA<sup>3</sup>, LUIZ ANTÔNIO DOS SANTOS DIAS<sup>3</sup>, NEUTON DENIZ PIOVESAN<sup>4</sup>

**RESUMO** - O retardamento de colheita após o estágio R8 de maturação, muitas vezes, é considerado responsável pela redução da germinação e do vigor de sementes de soja, podendo, desta maneira, ser um método adequado para diferenciar genótipos em função da qualidade de suas sementes. Utilizando-se quatro genótipos do Programa de Melhoramento de Soja do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV), este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar se o retardamento de colheita pode ser um método eficiente para a seleção de genótipos com alta qualidade de sementes. Foram utilizadas sementes de genótipos identificados por: LOX-Lin<sup>b</sup> (ausência de lipoxigenase e baixo teor de ácido linolênico); LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup> (presença de lipoxigenase e teor normal de ácido linolênico); LOX-Lin<sup>n</sup> (ausência de lipoxigenase e teor normal de ácido linolênico) e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup> (presença de lipoxigenase e baixo teor de ácido linolênico). A confirmação das características dos genótipos foi realizada por testes colorimétricos e teste de determinação de atividade enzimática para lipoxigenase e cromatografia gasosa para os teores de ácido linolênico. As sementes foram colhidas nos estádios R8, R8+15 dias e R8+30 dias e submetidas aos testes de germinação, primeira contagem, envelhecimento acelerado, emergência em leito de areia, índice de velocidade de emergência e condutividade elétrica. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial, com quatro repetições. Após a análise de variância, as médias foram comparadas pelo teste de Tuckey a 5%. O retardamento de colheita realizado a partir do estágio R8+15 dias foi eficaz em diferenciar a qualidade fisiológica das sementes dos genótipos estudados. Em geral, sementes dos genótipos sem lipoxigenases mostraram melhor qualidade fisiológica.

Termos para indexação: *Glycine max*, lipoxigenase, ácido linolênico, colheita, vigor.

### HARVEST DELAY AS A METHOD FOR DIFFERENTIATING SOYBEAN GENOTYPES FOR SEED PHYSIOLOGICAL QUALITY.

**ABSTRACT** – The experiment was carried out with the objective of evaluating the effect of harvest delay on the differentiation of seed quality in soybean. Four different genotypes were utilized: LOX-Lin<sup>b</sup> (seeds without lipoxygenase and low linolenic acid content); LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup> (seeds with lipoxygenase and normal linolenic acid content); LOX-Lin<sup>n</sup> (seeds without lipoxygenase and normal linolenic acid content) and LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup> (seeds with lipoxygenase and low linolenic acid content). The seeds were harvested at the R8 stage, and at R8+15 days and R8+30 days. Seed physiological quality was evaluated by germination, accelerated aging, germination speed, electric conductivity and seedling emergence tests. It was concluded that: the delayed harvest from R8+15 days was efficient to differentiate genotypes for seed physiological quality. Genotypes without lipoxygenase showed higher seed physiological quality than genotypes with lipoxygenase.

Index terms: *Glycine max*, lipoxygenase, linolenic acid, harvest, vigour.

<sup>1</sup> Submetido em 28/01/2006. Aceito para publicação em 28/11/2006. Parte da Dissertação de Doutorado em Fitotecnia, pelo primeiro autor.

<sup>2</sup> Eng. Agrônomo, Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental. wanderlei@cpaa.embrapa.br

<sup>3</sup> Eng. Agrônomo, Professor da Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 – Viçosa – MG.

<sup>4</sup> Eng. Agrônomo, MS em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 – Viçosa – MG.

## INTRODUÇÃO

A qualidade de sementes de soja é um fator de extrema importância para a expansão desta cultura em regiões tropicais e subtropicais. Diversas técnicas podem ser utilizadas para a produção de sementes de melhor qualidade em tais regiões como, por exemplo, a localização dos campos de produção em regiões propícias para a produção de sementes, escolha de épocas de semeadura específicas e controle de doenças pela aplicação de fungicidas foliares. Entretanto, o melhoramento genético para qualidade de sementes é, sem dúvida, o método mais eficaz para alcançar ganhos de qualidade (França Neto e Henning, 1984).

O maior uso da soja, como fonte de proteínas na alimentação humana, tem encontrado dificuldades, principalmente em razão do seu sabor característico (*beany flavor*). Outro aspecto inerente à qualidade da soja, considerado relevante pela indústria de alimentos, é o teor de ácido linolênico no óleo, responsável pela baixa estabilidade dos produtos de soja. O Programa de Melhoramento da Qualidade da Soja da Universidade Federal de Viçosa, com objetivo de desenvolver linhagens especiais para a agroindústria, criou um valioso germoplasma contendo, dentre outros, genes para ausência de lipoxigenase e baixos teores de ácido linolênico.

O sucesso de um programa de melhoramento de produção de diversas espécies agrícolas, propagadas por meio de sementes, depende da utilização de genitores superiores. Além de possuir elevado potencial de produtividade, resistência às doenças e insetos, ampla adaptação ambiental e alguns parâmetros especiais, como qualidade de fibra e de grão (Krzyzanowski, 1998), esses cultivares devem produzir sementes de alta qualidade, o que assegurará a obtenção de populações adequadas de plantas.

A qualidade fisiológica das sementes é influenciada diretamente pelo genótipo, sendo máxima por ocasião da maturidade fisiológica; nesta fase, o peso de matéria seca, a germinação e o vigor geralmente atingem valores máximos. A partir deste momento, alterações degenerativas começam a ocorrer, de modo que a qualidade fisiológica é mantida ou decresce, dependendo das condições ambientais no período que antecede a colheita, da condução dos processos de colheita, secagem, beneficiamento e das condições de armazenamento (Delouche e Baskin, 1973; McDonald Jr., 1975).

Segundo Sedyama et al. (1981), a colheita da soja deve ser feita de preferência logo após a maturação fisiológica.

Entretanto, nem sempre isto é possível, principalmente se a colheita coincide com períodos chuvosos, que podem causar danos irreparáveis à qualidade dessas sementes. Em condições climáticas favoráveis, os problemas podem não se manifestar, porém a ocorrência de chuvas ou orvalho, associados a altas temperaturas, diminui a qualidade das sementes, à medida que a colheita é retardada.

As sementes de soja são extremamente sensíveis à deterioração no período em que permanecem no campo até atingirem o teor de água adequado para a colheita. Para Sedyama et al. (1981), o nível de tolerância à deterioração no campo difere entre cultivares e entre ambientes, porém o ambiente e, principalmente, as condições climáticas, como alta temperatura e precipitação, são mais importantes que o tempo de permanência da semente no campo após a maturação fisiológica.

Vários métodos podem ser utilizados para seleção de genótipos de soja para a alta qualidade das sementes e, dentre eles, os métodos mais utilizados para seleção de genótipos de soja para a qualidade de sementes, segundo França Neto et al. (1994), são os que utilizam os princípios do envelhecimento acelerado, retardamento de colheita e de determinação das características do tegumento, como permeabilidade e conteúdo de lignina. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do retardamento de colheita como método para a seleção de genótipos com características contrastantes para a enzima lipoxigenase e teor de ácido linolênico, com alta qualidade fisiológica de sementes.

## MATERIAL E MÉTODOS

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

Quatro genótipos similares fenotipicamente, mas contrastantes quanto à presença de lipoxigenase e quanto ao teor de ácido linolênico, cultivados na mesma época e local, foram utilizados: ausência de lipoxigenase e baixo teor de ácido linolênico (LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup>); presença de lipoxigenase e teor normal de ácido linolênico (LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup>); ausência de lipoxigenase e teor normal de ácido linolênico (LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup>) e presença de lipoxigenase e baixo teor de ácido linolênico (LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup>).

A semeadura das sementes dos genótipos em F7 foi efetuado dia 12/12/01, em 15 linhas de 6 metros de comprimento. Cada linha foi colhida individualmente. Do

material correspondente a cada fileira foram tomadas, aleatoriamente, 10 sementes para a realização de microanálises para a confirmação das características em cada grupo. Cada linha de cada genótipo foi colhida individualmente, em três épocas diferentes e subseqüentes, com retardamento de colheita, para determinar a deterioração e a perda de qualidade fisiológica das sementes desses genótipos nas diferentes épocas. A primeira colheita foi realizada dia 18/04/2002, para todos os genótipos, no estádio R8 da escala de Fehr e Caviness (1979), isto é, quando as plantas se encontravam com 95% de suas vagens maduras. As demais colheitas foram feitas 15 e 30 dias após a primeira.

Após a colheita, as plantas de cada linha foram secas à sombra e trilhadas manualmente. As sementes foram limpas e, à medida que atingiam o grau de umidade desejado (cerca de 12%), uma pequena porção de sementes de cada linha foi coletada para confirmação, em laboratório, quanto à presença ou ausência de lipoxigenase e à composição de ácidos graxos na porção óleo nessas sementes.

Confirmada, em laboratório, a identidade de cada linha (lipoxigenase e ácido graxo), elas foram misturadas e homogeneizadas constituindo, assim, os genótipos. As sementes foram armazenadas em câmara fria (10°C e 63% UR) por 20 dias, até a realização das análises de qualidade. Posteriormente, as sementes de cada genótipo foram retiradas da câmara fria com dois dias de antecedência e colocadas à temperatura ambiente, para que a umidade das sementes entrasse em equilíbrio com o ambiente. Essas sementes tiveram sua qualidade fisiológica avaliada por meio dos testes de germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, porcentagem e índice de velocidade de emergência das plântulas em substrato de areia e condutividade elétrica.

**Determinação das atividades de LOX 1 e 3:** para obtenção do extrato, 10mg de sementes foram maceradas em almofariz em banho de gelo, utilizando 600mL de tampão tris 60mM, pH 8,2, contendo CaCl<sub>2</sub> 15mM e sacarose 13% (p/v) que foi mantido a -20°C. O homogenato foi centrifugado a 13.600g por 20 minutos a 4°C para utilização do sobrenadante (extrato bruto). As atividades de LOX 1 e 3 foram determinadas espectrofotometricamente medindo-se a absorvância após 2 minutos a 234 e 280nm, respectivamente (Oliveira et al., 1998).

**Determinação de ácidos graxos:** a identificação e quantificação de ácidos graxos (oléico e linolênico) presentes nas sementes de soja foram realizadas por cromatografia gasosa. Para a obtenção de ésteres metílicos, foi utilizada uma modificação da metodologia descrita por Bubeck et. al. (1989).

**Determinação do grau de umidade das sementes:** utilizou-se o método da estufa 105 ± 3°C durante 24 horas (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem média (base úmida) para cada genótipo.

**Teste de germinação:** foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes semeadas em papel germitest umedecido com água destilada utilizando um volume equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Foram confeccionados rolos, os quais foram colocados em germinador regulado para a temperatura de 25±1°C. As avaliações foram realizadas aos cinco e oito dias após a instalação do teste, efetuadas segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais obtidas para cada genótipo.

**Primeira contagem de germinação:** foi conduzido conjuntamente ao teste de germinação, consistindo do registro das porcentagens de plântulas normais encontradas na primeira contagem feita no quarto dia após a instalação do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais por genótipo.

**Teste de envelhecimento acelerado:** seguindo a metodologia descrita por McDonald e Phaneendranath (1978), foram colocadas 250 sementes sobre tela, em caixas gerbox adaptadas (11 x 11 x 3,5cm) contendo, ao fundo, 40mL de água desmineralizada. Em seguida, as caixas foram tampadas, de modo a se obter 100% de umidade relativa em seu interior, foram mantidas em incubadora tipo BOD por 48 horas a 41°C, conforme recomendação de Krzyzanowski et al. (1991). Após o período de envelhecimento, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, em quatro repetições de 50 sementes, empregando-se o método descrito para o teste de germinação. As avaliações foram realizadas cinco dias após a instalação do teste, sendo os resultados expressos em porcentagem média de plântulas normais.

**Teste de emergência em leito de areia:** em bandejas plásticas (0,27m x 0,32m x 0,06m) contendo areia previamente lavada e esterilizada com brometo de metila, foram semeadas 200 sementes, em cinco repetições de 40 sementes por sulco. Este teste foi realizado em casa de vegetação, e as irrigações foram realizadas sempre que necessário. A avaliação e contagem de plântulas normais foram feitas no décimo dia após a instalação do teste, quando a porcentagem de germinação tornou-se constante. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais emergidas, de acordo com os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

**Índice de velocidade de emergência:** este teste foi

instalado com a mesma metodologia descrita para o teste de porcentagem de emergência em leito de areia, diferindo apenas na avaliação. Foram feitas observações diárias e, a partir do quinto dia, foi computado diariamente e no mesmo horário o número de plântulas que apresentavam os cotilédones ainda fechados, perpendicular ao eixo longitudinal do hipocótilo, até o décimo dia. Para a avaliação deste teste, foi empregado o índice de velocidade de emergência (IVE), sendo calculado através da fórmula de Maguire (1962).

**Condutividade elétrica:** para esta avaliação foi adotada a metodologia proposta pelo comitê de vigor da AOSA (1983). Quatro repetições de 25 sementes para cada genótipo foram pesadas com precisão de 0,01g e colocadas em copos plásticos (6cm de base) contendo 75mL de água destilada. Em seguida, foram levadas para BOD regulada à temperatura constante de 25°C, onde permaneceram por um período de embebição de 24 horas. Decorrido este período, a condutividade elétrica da solução foi determinada através de leitura em condutivímetro Digimed Cd-20 e os valores médios obtidos para cada genótipo foram expressos em  $\mu\text{mhos}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  de semente.

#### Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, que indicaram a não necessidade de transformação. As análises de variância foram processadas em esquema fatorial 4 x 3 (quatro genótipos e três épocas de colheita), em delineamento inteiramente casualizado. Para todas as variáveis foram utilizadas quatro repetições, exceto, para o teste de emergência em leito de areia e índice de velocidade de emergência, com cinco repetições. As médias relativas aos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tuckey, a 5% de probabilidade. Todas as análises foram processadas com o uso do software SAS (SAS, 1989).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar, pela Tabela 1, que todas as características atribuídas aos genótipos foram confirmadas, ou seja, fenotipicamente os genótipos são semelhantes, porém com características distintas para ausência e presença de lipoxigenase e teor de ácido linolênico.

Os valores médios obtidos no teste de germinação (Tabela 2) indicam que os quatro genótipos não diferiram significativamente entre si no estádio R8, porém, a partir do estádio R8+15 dias já foi possível observar uma diferenciação entre os genótipos. Nesse estádio, as sementes dos genótipos LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup>, LOX<sup>-</sup>Lin<sup>a</sup> e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup> apresentaram maior germinação em relação ao LOX<sup>+</sup>Lin<sup>a</sup>. No estádio R8+30 dias

**TABELA 1. Dados médios da caracterização inicial dos genótipos estudados, onde Gu (Grau de umidade), Á.L. (teor de ácido graxo linolênico), LOX (isoenzima lipoxigenase), - (presença), + (ausência), e três (E.C.) épocas de colheita, estádio de maturação R8, R8+15 dias e R8+30 dias.**

Genótipos	E.C.	Gu (%)	Á.L (%)	LOX
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>b</sup>	R8	12,14	3,58	-
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>b</sup>	R8+15	12,70	3,82	-
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>b</sup>	R8+30	11,27	3,32	-
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>a</sup>	R8	11,43	10,08	+
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>a</sup>	R8+15	12,92	9,74	+
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>a</sup>	R8+30	10,47	10,15	+
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>a</sup>	R8	12,45	9,52	-
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>a</sup>	R8+15	13,00	9,88	-
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>a</sup>	R8+30	11,81	9,02	-
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>b</sup>	R8	12,87	3,44	+
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>b</sup>	R8+15	13,10	3,11	+
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>b</sup>	R8+30	11,47	3,38	+

**TABELA 2. Valores médios, em porcentagem, de plântulas normais obtidas no teste de germinação de sementes de soja em quatro genótipos: LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup>, LOX<sup>+</sup>Lin<sup>a</sup>, LOX<sup>-</sup>Lin<sup>a</sup> e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup>, em função de três épocas de colheita, estádio de maturação R8, R8+15 dias e R8+30 dias.**

Genótipos	Épocas de colheita		
	R8	R8+15	R8+30
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>b</sup>	97,5 a	95,0 a	38,0 a
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>a</sup>	96,5 a	76,5 b	25,5 b
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>a</sup>	96,5 a	93,0 a	42,5 a
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>b</sup>	99,0 a	88,0 a	18,5 b

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

houve uma diferenciação ainda maior, onde os genótipos LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup> e LOX<sup>-</sup>Lin<sup>a</sup> foram superiores ao genótipos LOX<sup>+</sup>Lin<sup>a</sup> e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup>, os quais, não diferiram significativamente entre si.

Apesar de o teste de germinação, por si, não permitir uma avaliação do potencial fisiológico das sementes em diferentes condições, ele fornece informações sobre o potencial de uma amostra para germinar sob condições ótimas de ambiente. Conforme a Tabela 2, percebe-se que esse potencial tende a decrescer à medida em que as sementes permanecem no campo após sua maturação fisiológica. Esse decréscimo foi mais acentuado nos genótipos que apresentam a enzima lipoxigenase em sua constituição, resultado esse, discordante do apresentado por Martins (2001) e Dias (1999), que constataram que sementes de soja sem lipoxigenase são mais

susceptíveis à deterioração no campo, provocada pelo retardamento de colheita.

Pela primeira contagem do teste de germinação (Tabela 3) nota-se que, a partir do estágio R8, já foi possível diferenciar os genótipos. As médias, neste estágio, indicam uma inferioridade de LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup> em relação aos demais, que manteve o mesmo comportamento até o estágio de R8+15 dias. No estágio de R8+30 dias, houve comportamento semelhante verificado no teste de germinação, em que os genótipos que não apresentam lipoxigenase em sua constituição (LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup> e LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup>), apresentaram médias superiores aos outros dois genótipos (LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup> e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup>).

Com base nos resultados de envelhecimento acelerado (Tabela 4) verifica-se que não houve diferença significativa entre os genótipos no estágio R8. No estágio R8+15 dias já foi possível diferenciar significativamente os genótipos, sendo que as sementes de LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup> e LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup> foram superiores às demais médias. No estágio R8+30 dias ocorreu uma ordenação de médias semelhantes para todos os genótipos, caracterizando as sementes de LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup> e LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup> como de maior vigor e as dos genótipos LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup> como inferiores.

**TABELA 3. Valores médios, em porcentagem, de plântulas normais obtidas no teste de primeira contagem de sementes de soja em quatro genótipos: LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup>, LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup>, LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup> e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup>, em função de três épocas de colheita, estágio de maturação R8, R8+15 dias e R8+30 dias.**

Genótipos	Épocas de colheita		
	R8	R8+15	R8+30
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>b</sup>	91,5 a	86,5 a	31,5 a
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>n</sup>	82,5 b	51,0 b	13,0 b
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>n</sup>	91,0 a	80,5 a	32,0 a
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>b</sup>	95,0 a	82,0 a	18,5 b

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

**TABELA 4. Valores médios, em porcentagem, de plântulas normais obtidas no teste de envelhecimento acelerado de sementes de soja em quatro genótipos: LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup>, LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup>, LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup> e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup>, em função de três épocas de colheita, estágio de maturação R8, R8+15 dias e R8+30 dias.**

Genótipos	Épocas de colheita		
	R8	R8+15	R8+30
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>b</sup>	92,5 a	82,5 a	18,5 a
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>n</sup>	88,0 a	36,0 c	8,0 b
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>n</sup>	91,0 a	73,5 a	19,5 a
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>b</sup>	92,5 a	62,0 b	14,0 ab

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Cabe ressaltar que neste último estágio houve duas situações de efeito cumulativo de estresse nas sementes que foi o retardamento de colheita por 30 dias e o envelhecimento acelerado. Desta maneira, observou-se que todos os genótipos tiveram fraco desempenho germinativo dificultando, assim, sua diferenciação neste estágio de maturação.

Os valores médios obtidos pelo teste de condutividade elétrica (Tabela 5) mostraram que houve uma diferenciação entre os genótipos no estágio R8, classificando os genótipos em ordem crescente de condutividade em: LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup>, LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup>, LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup> e LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup>. Em R8+15 dias verificou-se uma ordenação semelhante das médias, caracterizando o LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup> como o de maior condutividade (menor vigor) e o LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup> como o de menor condutividade (maior vigor). Em R8+30 dias houve uma inversão dos valores médios obtidos em R8+15 dias, onde, o LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup> que em R8 apresentava-se com menor valor de condutividade, em R8+30 dias obteve o maior valor. Os demais genótipos não diferiram entre si no estágio R8+30 dias.

Para sementes de soja, segundo Paiva Agüero (1995), a condutividade elétrica pode estimar, com alto grau de precisão, o desempenho das mesmas no campo, dependendo das condições climáticas predominantes por ocasião da semeadura. Pode-se determinar valores ou faixas de valores de condutividade, no sentido de inferir sob que condições de campo devem ser utilizadas, com possibilidade de maior ou menor sucesso. Este autor verificou que pode ser obtida ótima emergência de sementes de soja no campo, com condutividade de até 110  $\mu\text{mhos.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ , desde que as condições de campo sejam adequadas à germinação e à emergência das mesmas. Por outro lado, sob pequenas limitações para a germinação, a condutividade não pode ser superior a 90  $\mu\text{mhos.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ . Também evidências de

**TABELA 5. Valores médios, em mmhos/cm/g, obtidos no teste de condutividade elétrica em sementes de soja em quatro genótipos: LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup>, LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup>, LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup> e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup>, em função de três épocas de colheita, estágio de maturação R8, R8+15 dias e R8+30 dias.**

Genótipos	Épocas de colheita		
	R8	R8+15	R8+30
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>b</sup>	70,73 b	77,50 ab	126,57 ab
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>n</sup>	59,45 c	77,32 ab	144,27 a
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>n</sup>	81,62 a	95,37 a	109,20 b
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>b</sup>	67,20 bc	71,50 b	117,27 b

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

variabilidade genética para a permeabilidade de membranas celulares em sementes de soja foram constatadas por Kryzanowski et al. (1997), que observaram que este teste mostrou-se promissor para seleção de genótipos quanto à qualidade das sementes, com base nas diferenças de permeabilidade de membrana celular.

Neste contexto, pode-se inferir que até o estágio R8+15 dias todos os genótipos, teoricamente, obteriam uma adequada emergência no campo (Tabela 5).

Os valores médios para o índice de velocidade de emergência estão apresentados na Tabela 6. Verifica-se que este teste não foi sensível para detectar diferenças entre os genótipos no estágio R8. No entanto, como no teste de germinação, em R8+15 dias já foi possível determinar diferenças significativas entre os genótipos, nos quais os genótipos LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup>, LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup> e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup> foram superiores ao LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup>. Em R8+30 dias verificou-se desempenho superior para as sementes dos genótipos LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup> e LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup> em relação aos genótipos LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup> e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup>, confirmando a inferioridade destes dois genótipos, apontadas em outros testes anteriormente mencionados.

Os resultados das médias referentes ao teste de emergência em leito de areia estão apresentados na Tabela 7. Nota-se que os resultados foram semelhantes aos de germinação, primeira contagem, envelhecimento acelerado e índice de velocidade de emergência, ou seja, a partir de R8+15 dias foi possível fazer uma diferenciação significativa dos genótipos e, em R8+30 dias foi possível, significativamente, agrupar os genótipos em dois grupos de acordo com sua qualidade fisiológica. Os genótipos superiores: LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup> e LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup> (sem lipoxigenase) e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup> e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup> (com lipoxigenase).

De uma maneira geral, observou-se que diferentes genótipos responderam de maneira diferenciada quanto à qualidade fisiológica de suas sementes. Os resultados

**TABELA 6. Valores médios do índice de velocidade de emergência de sementes de soja em quatro genótipos: LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup>, LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup>, LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup> e LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup>, em função de três épocas de colheita, estágio de maturação R8, R8+15 dias e R8+30 dias.**

Genótipos	Épocas de colheita		
	R8	R8+15	R8+30
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>b</sup>	7,25 a	7,07 a	3,00 a
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>n</sup>	7,07 a	4,90 b	0,93 b
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>n</sup>	7,40 a	6,62 a	3,42 a
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>b</sup>	7,52 a	7,31 a	1,57 b

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

**TABELA 7. Valores médios, em porcentagem, de plântulas normais emergidas, obtidos no teste de emergência em leito de areia em sementes de soja em quatro genótipos: LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup> (G1), LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup> (G2), LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup> (G3), LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup> (G4), em função de três épocas de colheita, estágio de maturação R8, R8+15 dias e R8+30 dias.**

Genótipos	Épocas de colheita		
	R8	R8+15	R8+30
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>b</sup>	96,0 a	96,0 a	40,0 a
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>n</sup>	95,0 a	71,5 b	14,0 b
LOX <sup>-</sup> Lin <sup>n</sup>	94,0 a	89,0 a	47,5 a
LOX <sup>+</sup> Lin <sup>b</sup>	96,0 a	94,0 a	23,0 b

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

indicaram que a enzima lipoxigenase, mais que o teor de ácido linolênico, afetou a qualidade fisiológica das sementes avaliadas em diferentes épocas de colheita.

O retardamento de colheita, quando conciliado a métodos de análise de sementes mais usais, como, por exemplo, o envelhecimento acelerado, pode vir a ser uma metodologia simples e prática na diferenciação de genótipos quanto à qualidade de sementes. Uma vez que são dois métodos que submetem as sementes à condições de estresse, a análise conjunta dos resultados de ambos poderia ser relacionada com o potencial fisiológico dessas sementes e, conseqüentemente, ser útil na obtenção de informações sobre a longevidade das sementes.

Diante dos resultados obtidos, em relação ao retardamento de colheita, pode-se concluir que os genótipos que não possuíam a enzima lipoxigenase em sua constituição produziram sementes de melhor qualidade fisiológica, o que foi observado em praticamente todos os testes utilizados. A variação no teor de ácido linolênico não afetou a qualidade fisiológica de sementes, provavelmente, por este ser um substrato para a enzima lipoxigenase. Este fato pode vir a ser melhor entendido quando se compara LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup>, que apresentou a pior qualidade fisiológica de sementes, possuidor de um dos principais substratos para a atuação da enzima lipoxigenase e, conseqüentemente, avançar no processo de deterioração das sementes.

Em relação ao LOX<sup>+</sup>Lin<sup>b</sup>, observou-se que suas sementes tiveram qualidade fisiológica intermediária em relação aos genótipos LOX<sup>-</sup>Lin<sup>b</sup> e LOX<sup>-</sup>Lin<sup>n</sup>, de melhor qualidade fisiológica e o LOX<sup>+</sup>Lin<sup>n</sup>, comentado acima, como o de pior qualidade fisiológica. Esta posição intermediária do genótipo quatro, provavelmente, pode ser devido aos teores reduzidos do

substrato da enzima lipoxigenase, ou seja, ácido linolênico.

Em todos os genótipos, as sementes colhidas no estádio R8+30 dias apresentaram qualidade fisiológica inferior quando comparadas às colhidas nos demais estádios. Como as sementes de soja são muito sensíveis à ação de fatores externos, condições climáticas desfavoráveis, tais como as que ocorreram, resultaram na redução do vigor dessas sementes, porém em intensidade diferenciada entre os genótipos.

## CONCLUSÕES

O método de retardamento de colheita, após o estádio R8 de desenvolvimento, mostra-se adequado para diferenciar genótipos em função de qualidade de suas sementes, principalmente, quando em associação com o método de envelhecimento acelerado.

A colheita de sementes de soja realizada a partir do estádio de maturação R8+15 dias, na maioria dos testes, permite diferenciar a qualidade fisiológica das sementes dos genótipos estudados

No método de retardamento de colheita, a deterioração das sementes dos genótipos estudados é mais influenciada pela enzima lipoxigenase do que do teor de ácido linolênico

Os genótipos que não apresentam a enzima lipoxigenase em sua constituição apresentam melhor qualidade fisiológica de sementes.

## REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. East Lasing: AOSA, 1983. 88p. (Contribution, 32).
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365p. 1992.
- BUBECK, D.M., FEHR, W.R., HAMMOND, E.G. Inheritance of palmitic and stearic acid mutants of soybean. **Crop Science**, Madison, v.29, p.652-56, 1989.
- DELOUCHE, J.C., BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seeds lots. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, n.2, p.427-52, 1973.
- DIAS, A.C.P. **Atividade de lipoxigenases durante a germinação e qualidade fisiológica de sementes de soja**. 1999. 68f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- FEHR, W.R., CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University; Cooperative Extension Service, 1979. 12p.
- FRANÇA NETO, J.B., HENNING, A.A., KRZYZANOWSKI, F.C. Seed production and technology for the tropics. In: \_\_\_\_\_. **Tropical soybean: improvement and production**. Rome: FAO, 1994. p.217-240.
- FRANÇA NETO, J.B., HENNING, A.A., **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1984. 39p. (Circular Técnica, 9).
- KRZYZANOWSKI, F.C. Relationship between seed technology and federal plant breeding programs. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.55, p.83-87, 1998.
- KRZYZANOWSKI, F.C., FRANÇA NETO, J.B., COSTA, N.P., HENNING, A.A., KASTER, M. Permeabilidade de membrana de célula de sementes de soja. In: \_\_\_\_\_. **Resultados de pesquisa da Embrapa Soja 1996**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1997. p.145-148 (Documentos, 104).
- KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.S. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.1, n.2, p.15-50, 1991.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v.2, p.176-77, 1962.
- MARTINS, C.A.O. **Avaliação de caracteres agrônômicos de linhagens de soja com ou sem lipoxigenase nas sementes**. 2001. 109f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.
- McDONALD JR., M.B. A review and evaluation of seed vigor tests. **Proc. Assoc. Off. Seed Anal.** Lansing, v.65, p.109-39, 1975.
- McDONALD JR., M.B., PHANEENDRANATH, B.R. A modified accelerated aging vigor test procedure. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v.3, n.1, p.27-37, 1978.
- 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 lipoxigenases 1 and 3 based on enzymatic activity. **Biotechnology Techniques**, New York, v.12, p.71-74, 1998.
- PAIVA AGUERO, J.A. **Correlação de condutividade elétrica e outros testes de vigor com emergência de plântulas de soja no campo**. 1995. 92f. Dissertação (Mestrado em Produção e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1995.
- SEDIYAMA, T., SILVA, R.F., THIÉBAUT, J.T.L., REIS, M.S., FONTES, L.A.N., MARTINS, O. Influência da época de semeadura e do retardamento de colheita sobre a qualidade das sementes e outras características agrônômicas das variedades de soja UFV-1 e UFV-2, em Capinópolis, MG. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., 1981, **Anais...** EMBRAPA, 1981. v.1, p.645-59.
- SAS. Institute Inc. **SAS/STAT user's guide**. version 6. v. 2. 4.ed. Cary: SAS Institute, 1989. 846 p.

