

## QUALIDADE SANITÁRIA E PRODUÇÃO DE ALDEÍDOS TOTAIS EM SEMENTES DE SOJA SEM LIPOXIGENASES<sup>1</sup>

TÂNIA CRISTINA OLIVEIRA GONDIM<sup>2</sup>, CARLOS SIGUEYUKI SEDIYAMA<sup>3</sup>, VALTERLEY SOARES ROCHA<sup>3</sup>, MAURÍLIO ALVES MOREIRA<sup>4</sup>, MARLEI ROSA SANTOS<sup>2</sup> E JOSÉ LUIZ LOPES GOMES<sup>5</sup>

**RESUMO** - Objetivou-se avaliar o efeito da eliminação genética das lipoxigenases das sementes de quatro variedades de soja, na qualidade sanitária e produção de aldeídos das sementes colhidas em diferentes períodos. Para isso, sementes das variedades CAC-1, Doko-RC, UFV-16 e Cristalina e suas respectivas linhagens com ausência das três lipoxigenases, denominadas triplo-nulas, foram multiplicadas no campo e colhidas no estágio R8 e 15, 30 e 45 dias depois. As sementes foram submetidas ao teste de sanidade (blotter) e à análise de aldeídos totais, pelo método do MBTH. Os dados permitiram concluir que os fungos mais frequentes foram *Fusarium* spp., *Phomopsis* spp. e *Cercospora kikuchii*, sendo que a frequência do total de fungos aumentou com o retardamento da colheita. A produção de aldeídos aumentou com o retardamento da colheita, nas sementes dos materiais Cristalina com e sem lox, CAC-1 com lox e Doko RC sem lox, enquanto nas sementes dos demais materiais, a produção de aldeídos foi mínima em todas as épocas de colheita. Não houve efeito da eliminação genética das lipoxigenases das sementes sobre a incidência de fungos ou a produção de aldeídos.

Termos para indexação: *Glycine max*, época de colheita, semente, sabor da soja.

### SEED HEALTH QUALITY AND TOTAL ALDEHYDE PRODUCTION OF SOYBEAN SEEDS LACKING LIPOXYGENASES

**ABSTRACT** - This work was carried out to evaluate the effect of seed lipoxigenases genetic elimination on the sanitary quality and aldehyde production of the seeds of four soybean varieties, harvested at different periods. Seeds of CAC-1, Doko-RC, UFV-16 and Cristalina varieties and their respective lines with absence of the three lipoxigenases, called triple-null, were multiplied in the field and harvested at the R8 stage and 15, 30 and 45 days later. The seeds were submitted to the blotter test and to the evaluation of total aldehyde content by the MBTH method. It was concluded that the most frequent fungi were *Fusarium* spp., *Phomopsis* spp. and *Cercospora kikuchii*. The frequency of total fungi increased with harvest delaying. The harvest delaying increased the production of aldehyde in the seeds of Cristalina with and without lipoxigenases, of CAC-1 with lipoxigenases and of Doko RC without lipoxigenases, while in the seeds of the remaining genotypes, the aldehyde production was minimum in all harvesting times. The genetic elimination of lipoxigenases from the seeds did not affect the fungi incidence or the aldehyde production.

Index terms: *Glycine max*, harvest time, seed, soybean flavor.

### INTRODUÇÃO

A aceitação da soja como alimento é ainda limitada, em virtude do seu sabor e odor característicos, que têm como principal causa as enzimas lipoxigenases, que na semente da soja, estão presentes nas formas de lox 1, lox 2 e lox 3 e catalisam a hidroxidação de lipídios poliinsaturados.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 30.12.2001; parte da dissertação apresentada à UFV, pelo primeiro autor para a obtenção do título de Magister Scientiae em Fitotecnia.

<sup>2</sup> Alunas do curso de mestrado em Fitotecnia, UFV; 36570-000, Viçosa-MG; e-mail: tgondim@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Prof., Depto. de Fitotecnia, UFV; e-mail: cseyama@ufv.br

<sup>4</sup> Núcleo de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária - Bioagro, UFV.

<sup>5</sup> Pesquisador, UFV.

Os grãos de soja livres de lipoxigenases têm potencial na fabricação de iogurte soja, extrato hidrossolúvel, sorvetes e outros produtos, além da vantagem de maior estabilidade no armazenamento (Kitamura, 1995). A diminuição do teor de lipoxigenase de sementes de soja é um pré-requisito para o seu maior uso em alimentos e sua maior aceitabilidade pelo consumidor (Zougari et al., 1995). Assim, o programa de melhoramento de soja da UFV vem desenvolvendo linhagens de soja com ausência das isoenzimas por meio de retrocruzamentos.

Os fungos mais prejudiciais à produção de sementes de soja nas condições brasileiras são *Phomopsis* spp., *Fusarium* spp. e *Cercospora kikuchii* (Passos, 1994 e Dhingra & Acuña, 1997). A ocorrência de condições climáticas desfavoráveis, como chuvas e altas temperaturas durante as fases de maturação e colheita, afeta, além da qualidade fisiológica, a sanidade das sementes, pois podem propiciar aumento da infecção de sementes por fungos, como *Phomopsis* spp. e *Fusarium* spp. e, em conseqüência, reduzir a germinação (Green et al., 1965). Quanto maior o índice de sementes infectadas por *Phomopsis* spp., menor a porcentagem de germinação (França-Neto & Henning, 1984).

Os aldeídos são um dos principais produtos da atuação das lipoxigenases sobre os ácidos graxos poliinsaturados e, em geral, a sua produção é abundante em sementes de baixa qualidade fisiológica, podendo ser utilizada como variável para medir o vigor de sementes (Wilson-Jr. & McDonald-Jr., 1986).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da eliminação genética das lipoxigenases das sementes de soja, de quatro variedades, na qualidade sanitária e na produção de aldeídos das sementes colhidas em diferentes períodos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Sementes das variedades de soja CAC-1, Doko-RC, UFV-16 e Cristalina e de suas respectivas linhagens com ausência das três lipoxigenases, obtidas por retrocruzamentos, denominadas triplo-nulas, foram multiplicadas no campo, em área experimental do Departamento de Fitotecnia, em Viçosa-MG. As sementes de cada material genético foram colhidas no estádio R8 (Fehr & Caviness, 1979) e 15, 30 e 45 dias após a primeira colheita, sendo armazenadas em câmara fria (10°C e 70% de UR do ar). Logo após a última colheita, foram submetidas ao teste de sanidade e avaliada a produção de aldeídos.

A qualidade sanitária das sementes foi avaliada utilizando-se o método do papel-filtro (blotter test), proposto por

Neergaard, 1978, em caixas plásticas do tipo gerbox, lavadas e desinfetadas com hipoclorito de sódio a 2%, tendo ao fundo seis folhas de papel-filtro autoclavadas e umedecidas com solução de 2,4-D, a 0,005%, e estreptomomicina, a 100mg por litro. Em cada caixa, foram colocadas 25 sementes, equidistantemente, que formaram uma repetição. Para cada tratamento, foram utilizadas oito caixas, perfazendo oito repetições e um total de 200 sementes por tratamento. Antes de serem plaqueadas, as sementes foram tratadas com álcool a 70% por um minuto e com hipoclorito de sódio a 2% por mais um minuto e lavadas em água desmineralizada. As caixas permaneceram em ambiente de laboratório, com temperatura de 25±3°C e UR de 70%, sem controle da iluminação, por um período de sete dias, segundo Henning (1987), com modificações. Após o crescimento e a esporulação dos patógenos, foi determinada a porcentagem de sementes infectadas por *Phomopsis* spp., *Fusarium* spp., *Cercospora kikuchii* e o total de fungos.

Para a verificação da produção de aldeídos, foram analisadas quatro repetições de 5g de sementes de cada material genético, em cada época de colheita. Foi utilizado o método colorimétrico descrito por Wilson-Jr. & McDonald-Jr. (1986), com modificações sugeridas por Reis et al. (1989) e Santos et al. (1993), tendo como reagente de coloração o 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (MBTH). As repetições de cada amostra foram colocadas em envelopes de papel-toalha previamente umedecidos com água destilada e colocadas em germinador a 25±1°C, por 24 horas. Após esse período, as sementes foram retiradas e colocadas em erlenmeyers, contendo 100ml de solução de etanol absoluto 2% e novamente incubadas em germinador a 25±1°C, para a extração dos aldeídos. Após um período de duas horas, os erlenmeyers foram retirados do germinador e de cada um foi tomada uma alíquota de 400µl da solução, colocada em tubo de ensaio, ao qual foram adicionados 400µl da solução de MBTH 0,1%. Após cinco minutos, adicionou-se 1,0ml de solução de FeCl<sub>3</sub> 0,23%. Cinco minutos após o tratamento com FeCl<sub>3</sub>, foram adicionados 2,5ml de acetona, para interromper a reação. Os resultados foram obtidos pela leitura de absorbância em 635nm, em espectrofotômetro Beckman, modelo DU-65, e expressos em valores de absorbância por 5g de sementes.

Os dados foram analisados no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e com parcelas subdivididas, sendo as parcelas constituídas pelo fatorial 4x2 (variedades x presença ou ausência de lipoxigenase) e as subparcelas constituídas pelas quatro épocas de colheita. A discussão dos resultados foi realizada com base na significância dos teste F e de Tukey (P<0,05).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

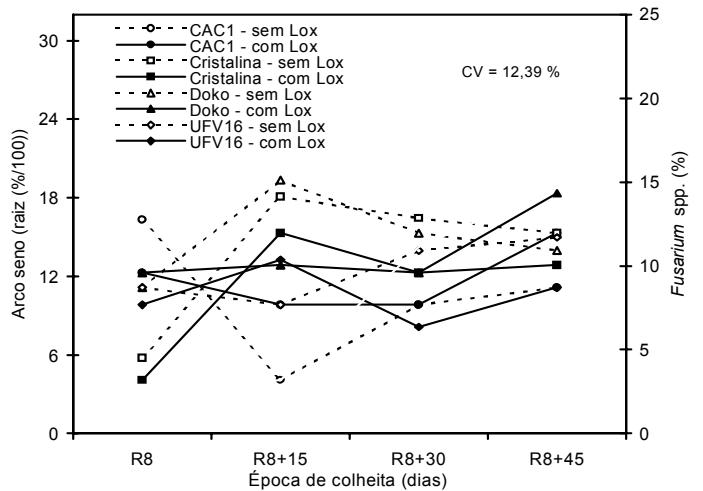
No teste de avaliação da sanidade das sementes, foram consideradas as incidências dos três fungos internos à semente mais freqüentes: *Phomopsis* spp., *Fusarium* spp. e *Cercospora kikuchii* (Figuras 1, 2, 3). Esses fungos são citados como os mais freqüentes na avaliação e por serem relacionados ao retardamento da colheita e à qualidade de sementes de soja (Passos, 1994 e Dhingra & Acuña, 1997). Foi, também, considerado o total de sementes com fungos, que incluiu os três fungos citados e outros eventualmente presentes (Figura 4).

Os resultados, expressos em termos de porcentagem de infecção de sementes pelo total de fungos (Figura 4) e na incidência de *Fusarium* sp. (Figura 2), não mostraram efeito da eliminação genética das lipoxigenases, em nenhuma época de colheita, variedade ou linhagem. Verificou-se certa constância do nível de incidência de *Fusarium* spp. em todas as épocas e genótipos, embora tenha sido observada certa tendência de aumento da incidência do total de fungos com o retardamento da colheita, fato também observado por Oliveira (1996).

A maior e menor incidência de *C. kikuchii* (Figura 3) foram observadas, respectivamente, nas sementes dos genótipos CAC-1, com e sem Lox, e UFV-16. Não houve incidência de *Phomopsis* spp. na primeira época de colheita (Figura 1). Foram constatadas maiores incidências na quarta

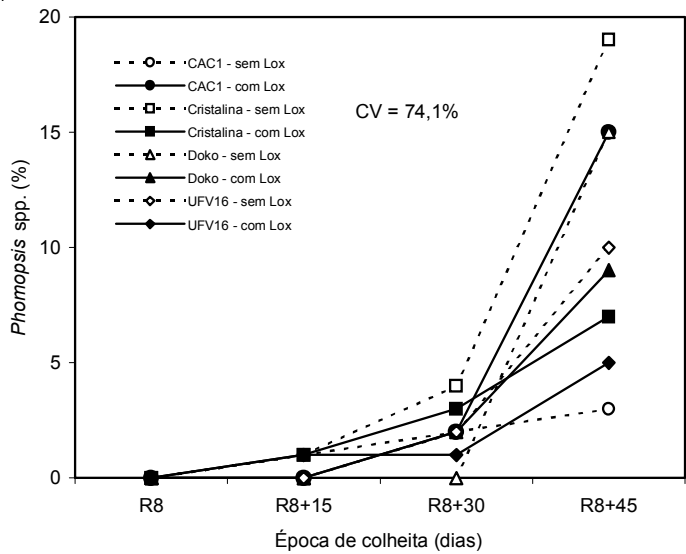
época de colheita para os genótipos com e sem Lox, mas principalmente para o material sem Lox.

Os resultados da análise da produção de aldeídos totais pelas sementes, avaliada pelo método do MBTH, indicaram diferentes perfis de evolução de aldeídos dos materiais genéticos, com o retardamento da colheita (Figura 5). Os materiais UFV-16 com ou sem lipoxigenases, Doko-RC com lipoxigenases e CAC-1 sem lipoxigenases apresentaram se-



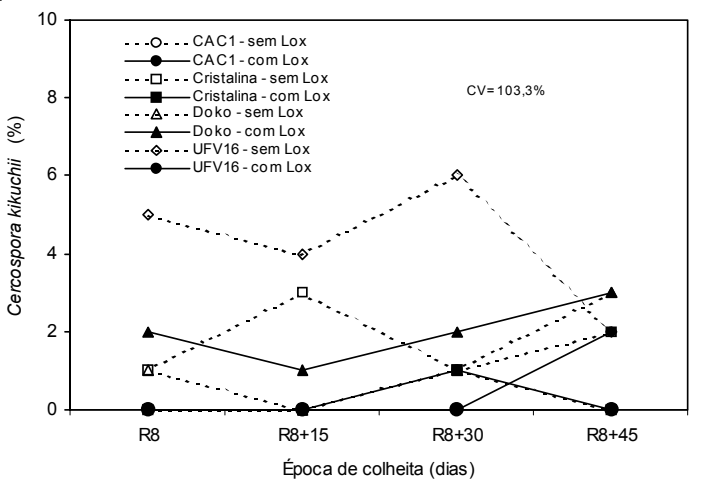
**FIG. 2. Porcentagens de *Fusarium* spp. obtidas no teste de sanidade dos cultivares CAC-1, Cristalina, Doko-RC e UFV-16 de soja, com e sem lipoxigenases, em quatro épocas de colheita.**

DMS-Tukey 5% entre materiais genéticos dentro de época = 9,00, em graus.



**FIG. 1. Porcentagens de *Phomopsis* spp. obtidas no teste de sanidade dos cultivares CAC-1, Cristalina, Doko-RC e UFV-16 de soja, com e sem lipoxigenases, em quatro épocas de colheita.**

DMS-Tukey 5% entre materiais genéticos dentro de época = 4,75.



**FIG. 3. Porcentagens de *Cercospora kikuchii* obtidas no teste de sanidade dos cultivares CAC-1, Cristalina, Doko-RC e UFV-16 de soja, com e sem lipoxigenases, em quatro épocas de colheita.**

DMS-Tukey 5% entre materiais genéticos dentro de época = 1,94.

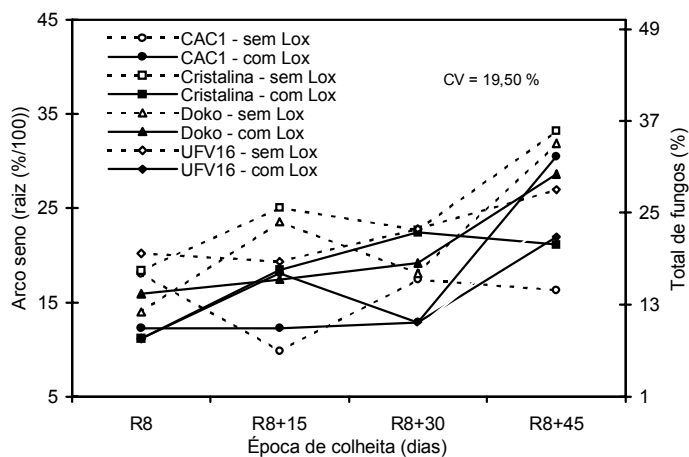


FIG. 4. Porcentagens de total de fungos obtidas no teste de sanidade dos cultivares CAC-1, Cristalina, Doko-RC e UFV-16 de soja, com e sem lipoxigenases, em quatro épocas de colheita.

DMS-Tukey 5% entre materiais genéticos dentro de época = 5,26, em graus.

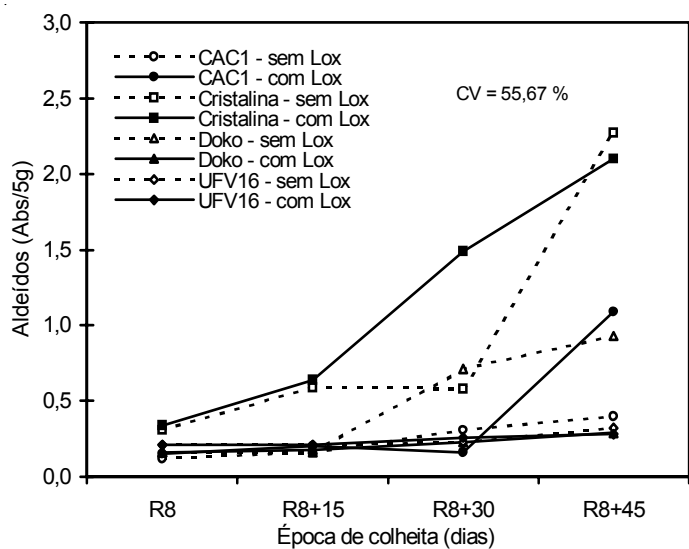


FIG. 5. Produção de aldeídos dos cultivares CAC-1, Cristalina, Doko-RC e UFV-16 de soja, com e sem lipoxigenases, em quatro épocas de colheita.

DMS-Tukey 5% entre materiais genéticos dentro de época = 0,59.

mentes com as menores produções de aldeídos em todas as épocas, enquanto Cristalina com e sem lipoxigenases apresentaram as maiores produções e Doko-RC sem e CAC-1 com lipoxigenases apresentaram aumento de intensidade intermediária, com o retardamento da colheita. Essa falta de relação entre produção de aldeídos e a presença ou ausência de lipoxigenases nas sementes está em desacordo com os resul-

tados obtidos por Sedyama et al. (1998), em estudo com a variedade Cristalina, em que foram observadas menores produções de aldeídos nos materiais genéticos sem lipoxigenases 2 e 3 nas sementes.

## CONCLUSÃO

- ♦ Os fungos mais freqüentes foram *Fusarium* spp., *Phomopsis* spp. e *Cercospora kikuchii*, sendo que a incidência de *Phomopsis* spp. e do total de fungos aumentou com o retardamento da colheita;
- ♦ não houve efeito da eliminação genética das lipoxigenases das sementes sobre a incidência de fungos;
- ♦ a produção de aldeídos aumentou com o retardamento da colheita, nas sementes dos materiais Cristalina com e sem lox, CAC-1 com lox e Doko RC sem lox, enquanto nas sementes dos demais materiais, a produção de aldeídos foi mínima em todas as épocas de colheita;
- ♦ não houve consistência do efeito da eliminação genética das lipoxigenases na produção de aldeídos.

## REFERÊNCIAS

- DHINGRA, O.D. & ACUÑA, R.S. **Patologia de sementes de soja**. Viçosa: Editora UFV, 1997. 119p.
- FEHR, W.R. & CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames: Cooperative Extension Service, Iowa State University, 1979. 12p.
- FRANÇA-NETO, J.B. & HENNING, A.A. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1984. 39p. (Circular Técnica, 9).
- GREEN, D.E.; PINNELL, E.L.; CAVANAH, L.E. & WILLIAMS, L. Effect of planting date and maturity date on soybean seed quality. **Agronomy Journal**, Madison, v.57, n.2, p.165-168, 1965.
- HENNING, A.A. Testes de sanidade de sementes de soja. In: SOAVE, J.C. & WETZEL, M.M.V.S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.441-454.
- KITAMURA, K. Genetic improvement of nutritional and food processing quality in soybean. **Japan Agricultural Research Quarterly**, Tsukuba, v.29, n.1, p.1-8, 1995.
- NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: MacMillan Press, 1978. v.2, 1259p.
- OLIVEIRA, D.A. **Qualidade fisiológica e produção de aldeídos em sementes de linhagens com ausência de lipoxigenases em sementes de soja**. Viçosa: UFV, 1996. 67p. (Dissertação Mestrado).
- PASSOS, G.A. **Avaliação de caracteres agrônômicos e de qualidade fisiológica e sanitária das sementes de genótipos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) cultivados em diferentes**

- regiões de Minas Gerais.** Viçosa: UFV, 1994. 91p. (Dissertação Mestrado).
- REIS, W.J.P.; ROCHA, V.S.; REZENDE, S.T.; MOREIRA, M.A. & SEDIYAMA, C.S. Correlação entre a evolução de n-hexanal e aldeídos totais e a germinação e vigor de sementes de soja. **Revista Ceres**, Viçosa, v.36, n.203, p.27-37, 1989.
- SANTOS, I.C.; REIS, W.J.P.; MOREIRA, M.A.; RESENDE, S.P.; ROCHA, V.S. & SEDIYAMA, C.S. Determinação de aldeídos totais para avaliar o potencial de germinação de sementes de soja. **Revista Ceres**, Viçosa, v.40, n.231, p.438-444, 1993.
- SEDIYAMA, C.S.; QUEIROZ, L.R.; MOREIRA, M.A. & REZENDE, S.T. Aldehyde production and physiological quality of soybean seeds lacking lipoxigenases isozymes. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 5, Chiang Mai, 1994. **Proceedings**. Bangkok: Kasetsart University Press, 1998. p.441-446.
- WILSON-JR., D.O. & McDONALD-JR., M.B. The lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science & Technology**, Zürich, v.14, n.2, p.269-300, 1986.
- ZOUGARI, A.; GUY, S. & PLANCHON, C. Genotypic lipoxigenase variation in soybean seeds and response to nitrogen nutrition. **Plant Breeding**, Berlin, v.114, n.4, p.313-316, 1995.

