



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JULIA ABATI

**ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE GENÓTIPOS DE
SOJA:
ASPECTOS BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS**

Londrina
2018

JULIA ABATI

**ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE GENÓTIPOS DE
SOJA:
ASPECTOS BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Claudemir Zucareli
Coorientador: Dr. Fernando Augusto Henning

Londrina
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Abati, Julia.

Armazenamento de sementes de genótipos de soja : aspectos bioquímicos e fisiológicos / Julia Abati. - Londrina, 2018.
147 f. : il.

Orientador: Claudemir Zucareli.

Coorientador: Fernando Augusto Henning.

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, , 2018.

Inclui bibliografia.

1. Antocianina - Tese. 2. Deterioração de sementes - Tese. 3. Lignina - Tese. 4. Isoflavona - Tese. I. Zucareli, Claudemir. II. Henning, Fernando Augusto. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. . IV. Título.

JULIA ABATI

**ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE GENÓTIPOS DE SOJA:
ASPECTOS BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Claudemir Zucareli
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Géri Eduardo Meneghello
Universidade Federal de Pelotas – UFPEL

Dra. Larissa Alexandra Cardoso Moraes
Empresa Brasileira de Pesquisa - EMBRAPA
Soja

Dra. Liliane Marcia Mertz Henning
Empresa Brasileira de Pesquisa - Embrapa
Soja

Prof. Dr. Marcelo Augusto de Aguiar e Silva
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 05 de dezembro de 2018.

Dedico

Aos meus pais, Jusara Dalpizzol Abati e Abel Abati Filho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre ao meu lado.

Ao meu orientador, professor Claudemir Zucareli, pelo apoio, disponibilidade, dedicação, ensinamentos, paciência, exigência, exemplo pessoal e profissional, credibilidade em mim depositada, momentos compartilhados e amizade. Obrigada pela imensa contribuição para o meu crescimento pessoal e profissional. Foi uma honra ser sua orientada, serei eternamente grata a ti!

Ao meu coorientador, pesquisador Fernando Augusto Henning, pelos ensinamentos, incentivo, confiança, disponibilidade e compreensão. Agradeço pelo auxílio, desde o momento em que cheguei a Londrina, abrindo-me as portas da Embrapa e propiciando-me a oportunidade inicial e o exemplo para que eu seguisse a carreira acadêmica. Agradeço, também, por todos os momentos compartilhados e a amizade. Obrigada pela imensa contribuição para o meu crescimento pessoal e profissional. Foi uma honra ser sua orientada, serei eternamente grata a ti!

A Universidade Estadual de Londrina e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de realização do Doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutoramento.

A Embrapa Soja, pela infraestrutura oferecida.

A pesquisadora Larissa Alexandra Cardoso Moraes, por todos os ensinamentos, paciência, momentos compartilhados, auxílio constante nas análises enzimáticas e pela amizade.

A pesquisadora Liliane Marcia Mertz Henning, pelos ensinamentos, pelas valiosas contribuições para a confecção dessa tese e amizade.

Aos pesquisadores Ademir Assis Henning, Irineu Lorini, Francisco Carlos Krzyzanowski, Ivani de Oliveira Negrão Lopes, José de Barros França Neto, José Marcos Gontijo Mandarino e José Salvador Simoneti Foloni pelo apoio, ensinamentos e incentivo.

Aos funcionários da Embrapa Soja: Antônio Rocha Melchiades, Agnes Izumi Nagashima, Elpídio Alves, Neiva Pereira Castro Silva, Vilma Cardoso Luiz Stroka, Waldemar de Oliveira Neto e a todos os estagiários que passaram pela área de sementes durante esse período. Agradeço o apoio, a amizade e os momentos compartilhados. Agradeço, também, ao Waldemar pelo auxílio nas análises de lignina. Ao Rodrigo Santos Leite, pela disponibilidade e colaboração na

avaliação das isoflavonas. Em especial, agradeço a Adriana de Marques Freitas, por todo apoio, amizade e por todas as vezes que, como você mesmo fala, acalmou o meu coração. Agradeço aos demais funcionários da Embrapa Soja que sempre me auxiliaram quando precisei.

Aos meus pais, Jusara Dalpizzol Abati e Abel Abati Filho, que sempre me apoiaram em todas as minhas decisões, que mesmo distante fisicamente sempre estão presentes; não tenho palavras suficientes para expressar a minha gratidão.

A todos os meus familiares que sempre me deram força para seguir em frente, em especial a minha irmã Eloisa Abati e aos meus primos Ana Maria Bridi, Urias Costa e Lara Bridi Costa por todo apoio e amizade.

Ao Cleverton de Carli, pelo companheirismo, incentivo, amor e atenção nos momentos mais difíceis e, sobretudo, pela compreensão da necessidade da distância.

Ao Cristian Rafael Brzezinski, Flávia Werner e Ronan Carlos Colombo, por ouvirem todos os meus momentos de angústia, pelos ótimos momentos vividos, ensinamentos, amizade, força, e colaboração no desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus colegas e amigos de pós-graduação, em especial a Jaqueline Cazado Felix e Rafaela Macagnan pelos momentos compartilhados, companheirismo e amizade.

A Martina Fuhrmann, pela ajuda nas análises enzimáticas e amizade.

Aos membros da banca, por disponibilizarem o seu valioso tempo para a contribuição neste trabalho.

Enfim, a todos que, de alguma maneira, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

ABATI, J. **Armazenamento de sementes de genótipos de soja: aspectos bioquímicos e fisiológicos**. 2018. 147 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

Diferenças na tolerância ao armazenamento de sementes entre cultivares de soja têm sido frequentemente constatadas. Com isso, buscou-se identificar compostos presentes nas sementes que possam estar relacionados a essas diferenças. Para tanto, utilizou-se sete cultivares de soja com características contrastantes quanto a metabólitos da rota dos fenilpropanóides (teor de lignina, cor e presença de antocianina no tegumento e teor de isoflavona na semente). As sementes foram armazenadas durante seis meses em câmara fria (11 °C e 54% de umidade relativa do ar) e em ambiente não controlado (média de 25 °C e 71% de umidade relativa do ar). Com base nas avaliações realizadas periodicamente, a cada dois meses, o trabalho foi dividido em artigos. No artigo A objetivou-se avaliar as alterações na qualidade fisiológica de sementes de cultivares de soja ao longo do armazenamento em dois ambientes e sua relação com metabólitos da rota dos fenilpropanóides. As avaliações realizadas foram: germinação, primeira contagem de germinação, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, comprimento total de plântula e tetrazólio. A qualidade fisiológica das sementes é reduzida ao longo do armazenamento, com maiores taxas de decréscimo no ambiente não controlado. As cultivares apresentam comportamento diferenciado quanto a conservação do potencial fisiológico ao longo do armazenamento. Os metabólitos da rota dos fenilpropanóides estudados, especialmente a lignina, interferem no potencial de armazenamento das sementes. Cultivares com maiores teores de lignina apresentam maior potencial de armazenamento, principalmente em ambiente não controlado. No artigo B objetivou-se avaliar a relação entre os parâmetros de absorção de água e a tolerância ao armazenamento de sementes de cultivares de soja com características contrastantes de tegumento. As avaliações foram: teor de água, taxa de absorção de água em 11 períodos de hidratação, índice de velocidade de hidratação, germinação, viabilidade e vigor das sementes. O teor de lignina no tegumento correlaciona-se negativamente com os parâmetros de absorção de água pelas sementes. Cultivares de soja apresentam diferentes níveis de tolerância ao armazenamento. Sementes que absorvem maiores quantidades de água possuem menor tolerância à deterioração frente às flutuações na temperatura e UR do ar que ocorrem no armazenamento em ambiente não controlado, afetando negativamente o potencial fisiológico dessas sementes. No artigo C objetivou-se avaliar as alterações na viabilidade e no vigor de sementes de cultivares de soja durante o armazenamento em dois ambientes, relacionando-as à atividade antioxidativa, a produção de espécie reativa de oxigênio e a metabólitos da rota dos fenilpropanóides. Nesse artigo, avaliou-se, a viabilidade, o vigor, a atividade da superóxido dismutase e catalase e o conteúdo de peróxido de hidrogênio. O armazenamento em câmara fria mantém a viabilidade inicial das sementes das cultivares A, C e D. Já, o armazenamento em ambiente não controlado reduz a viabilidade das sementes, com taxas de decréscimos variando de 0,61 a 2,13% por mês entre as cultivares. O vigor das sementes é reduzido durante o armazenamento, principalmente em ambiente não controlado. Não há associação entre a qualidade

fisiológica das sementes com a atividade da superóxido dismutase e da catalase, avaliadas no tegumento e no embrião. O aumento no conteúdo de peróxido de hidrogênio no tegumento reduz a qualidade fisiológica das sementes armazenadas no ambiente não controlado. A diferença na tolerância a deterioração ao longo do armazenamento de sementes não está relacionada ao teor total de isoflavonas, entretanto associa-se ao teor de lignina no tegumento, principalmente em ambiente com flutuações na temperatura e UR do ar.

Palavras-chave: Antocianina. *Glycine max* (L.) Merrill. Deterioração. Lignina. Isoflavona.

ABATI, J. **Storage of soybean genotypes seeds: biochemical and physiological aspects.** 2018. 147 P. Thesis (Doctorate in Agronomy) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

Differences in tolerance to seed storage among soybean cultivars have been frequently observed. Thereby, it was sought to identify compounds present in the seeds that may be related to these differences. For that, seven soybean cultivars with contrasting characteristics were used for the phenylpropanoid pathway metabolites (lignin content, color and presence of anthocyanin in the seed coat and isoflavone content in the seed). The seeds were stored for six months in a cold chamber (11 °C and 54% of relative humidity) and in an uncontrolled environment (average of 25 °C and 71% of relative humidity). Based on the evaluations carried out periodically, every two months, the work was divided into articles. In article A, the aim was to evaluate changes in the physiological quality of soybean cultivars seeds throughout storage in two environments and their relation with metabolites of the phenylpropanoid pathway. The evaluations were: germination, first germination count, seedling emergence, emergence speed index, total seedling length and tetrazolium. The physiological quality of the seeds is reduced throughout the storage, with higher rates of decrease in the uncontrolled environment. The cultivars show a differentiated behavior regarding the conservation of the physiological potential throughout the storage. The metabolites of the phenylpropanoids pathway studied, especially the lignin, interfere in the seeds storage potential. Cultivars with higher lignin contents show greater storage potential, especially in an uncontrolled environment. In article B, the aim was to evaluate the relation among water uptake parameters and storage tolerance of soybean cultivars seeds with contrasting coat characteristics. The evaluations were: water content, rate of water uptake in 11 hydration periods, hydration speed index, germination, viability and seed vigor. The lignin content in seed coat correlates negatively with the parameters of water uptake by the seeds. Soybean cultivars show different levels of storage tolerance. Seeds that absorb larger amounts of water have a lower tolerance to deterioration due fluctuations in air temperature and RH that occur in storage in uncontrolled environment, negatively affecting the physiological potential of these seeds. In article C, the aim was to evaluate the changes in viability and vigor of soybean cultivars seeds during storage in two environments, relating them to antioxidative activity, the production of reactive oxygen species and to the metabolites of the phenylpropanoids pathway. In this paper, the viability, vigor, superoxide dismutase and catalase activity and hydrogen peroxide content were evaluated. The cold chamber storage maintain the initial seeds viability of cultivars A, C and D. However, the storage in an uncontrolled environment reduces the viability of the seeds, with rates of decreases ranging from 0.61 to 2.13% per month between the cultivars. Seed vigor is reduced during storage, especially in an uncontrolled environment. There is no association between the physiological quality of the seeds with the superoxide dismutase and catalase activity, evaluated in the seed coat and the embryo. The increase in hydrogen peroxide content in the coat reduces the physiological quality of the seeds stored in the uncontrolled environment. The difference in the tolerance to deterioration throughout the storage of seeds is not related to the total isoflavones content, however it is associated to the lignin content in the coat, mainly in the environment with fluctuations in the air temperature and RH.

Key words: Anthocyanin. *Glycine max* (L.) Merrill. Deterioration. Lignin. Isoflavone.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1	Representação esquemática da rota dos fenilpropanóides. Setas sólidas indicam uma reação enzimática de passo único e setas tracejadas múltiplas sequenciais reações enzimáticas. Enzimas: PAL (fenilalanina amônia-liase); C4H (cinamato 4-hidroxilase); 4CL (4-cumarato CoA ligase); COMT (ácido caféico O-metiltransferase); HCT/CST (hidroxicinamoil-CoA: chiquimato/quinato hidroxicinamoil-transferase); C3H (<i>p</i> -cumarato-3-hidroxilase); CCoAOMT (cafeoil-Coa 3-O-metiltransferase); CCR (cinamoil-Coa redutase); CAD (cinamoil álcool desidrogenase); F5H (ferulato 5-hidroxilase); CHS (chalcona sintase); CHR (chalcona redutase) e STS (estilbeno sintase).....	37
Figura 3.1	Temperatura máxima, média e mínima diária (°C) e umidade relativa do ar máxima, média e mínima diária (%) durante o período de armazenamento de sementes de soja em câmara fria e ambiente não controlado	71
Figura 3.2	Germinação, primeira contagem de germinação, emergência de plântulas e dano mecânico classe 6-8 pelo teste de tetrazólio em função dos períodos de armazenamento em condições de câmara fria, média de oito cultivares de soja.....	75
Figura 3.3	Germinação, primeira contagem de germinação, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência e comprimento total de plântula de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de ambiente não controlado	78
Figura 3.4	Índice de velocidade de emergência e comprimento total de plântula de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria	81
Figura 3.5	Viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria.....	84

Figura 3.6	Viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de ambiente não controlado	85
Figura 3.7	Danos mecânicos, por umidade e percevejo, avaliados pelo teste de tetrazólio, classes 1-8 e 6-8, de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria.....	88
Figura 3.8	Danos mecânicos, por umidade e percevejo, avaliados pelo teste de tetrazólio, classes 1-8 e 6-8, de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de ambiente não controlado	89
Figura 3.9	Dano mecânico (MC 6-8) classe 6-8 pelo teste de tetrazólio em função dos períodos de armazenamento em condições de ambiente não controlado, média de oito cultivares de soja	90
Figura 4.1	Temperatura máxima, média e mínima diária (°C) e umidade relativa do ar máxima, média e mínima diária (%) durante o período de armazenamento de sementes de soja em câmara fria (A) e ambiente não controlado (B).....	104
Figura 4.2	Absorção de água (%) em sementes de cinco cultivares de soja (A, B, C, D e E) contrastantes quanto à cor e teor de lignina no tegumento, submetidas a onze períodos de hidratação (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 24, 32 e 48 horas).....	110
Figura 5.1	Temperatura máxima, média e mínima diária (°C) e umidade relativa do ar máxima, média e mínima diária (%) durante o período de armazenamento de sementes de soja em câmara fria (A) e ambiente não controlado (B).....	126
Figura 5.2	Viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria.....	131
Figura 5.3	Viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de ambiente não controlado	132

Figura 5.4	Associação entre a viabilidade e o vigor de sementes com a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), avaliada no embrião e no tegumento das sementes, em cinco cultivares de soja (A, B, C, D e E) ao longo do armazenamento em câmara fria (CF) e em ambiente não controlado (NC)	134
Figura 5.5	Associação entre a viabilidade e o vigor de sementes com a atividade catalase (CAT), avaliada no embrião e no tegumento das sementes, em cinco cultivares de soja (A, B, C, D e E) ao longo do armazenamento em câmara fria (CF) e em ambiente não controlado (NC).....	135
Figura 5.6	Associação entre a viabilidade e o vigor de sementes com o peróxido de hidrogênio (PER), avaliado no embrião e no tegumento das sementes, em cinco cultivares de soja (A, B, C, D e E) ao longo do armazenamento em câmara fria (CF) e em ambiente não controlado (NC).....	137

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Caracterização das cultivares utilizadas quanto aos metabólitos da via dos fenilpropanóides (cor, antocianina e teor de lignina no tegumento e teor de isoflavona em sementes).....	69
Tabela 3.2	Quadro de análise de variância para as características de qualidade fisiológica de sementes de soja, em função da cultivar e período de armazenamento em dois ambientes.....	74
Tabela 3.3	Germinação (GER), primeira contagem de germinação (PCG), emergência de plântulas (EMA) e dano mecânico classe 6-8 pelo teste de tetrazólio (MC 6-8) de sementes de soja em função de cultivares, média de quatro avaliações ao longo do período de seis meses de armazenamento em condições de câmara fria.....	75
Tabela 3.4	Germinação (GER), primeira contagem de germinação (PCG), emergência de plântulas (EMA), índice de velocidade de emergência (IVE) e comprimento total de plântula (CTP) de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de ambiente não controlado.....	77
Tabela 3.5	Índice de velocidade de emergência (IVE) e comprimento total de plântula (CTP) de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria.....	81
Tabela 3.6	Viabilidade, vigor, danos mecânicos, por umidade e percevejo, avaliados pelo teste de tetrazólio, classes 1-8 e 6-8, de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria.....	83
Tabela 3.7	Viabilidade, vigor, danos mecânicos, por umidade e percevejo, avaliados pelo teste de tetrazólio, classes 1-8 e 6-8, de sementes de soja ao longo do período de armazenamento em condições de ambiente não controlado.....	87

Tabela 3.8	Dano mecânico (MC 6-8) e por percevejo (PER 6-8), classes 6-8, avaliados pelo teste de tetrazólio em sementes de soja em função de cultivares, média de quatro avaliações, ao longo do período de seis meses de armazenamento em condições de ambiente não controlado.....	89
Tabela 3.9	Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os resultados das variáveis de qualidade fisiológica analisadas e os teores de lignina e de isoflavona em sementes de oito cultivares de soja, avaliados no período de zero (P0) e seis meses (P6) de armazenamento em câmara fria (CF) e em ambiente não controlado (NC)	92
Tabela 4.1	Caracterização das cultivares de soja utilizadas quanto a cor e ao teor de lignina do tegumento.....	104
Tabela 4.2	Quadro de análise de variância para absorção de água em sementes (AS), em função de cultivar e período de hidratação; teor de água (TA) e índice de velocidade de hidratação (IVH) de sementes, em função de cultivar; germinação (GER), viabilidade (TZ VIA) e vigor (TZ VIG) pelo teste de tetrazólio em sementes de soja, em função de cultivar e período de armazenamento em dois ambientes.....	108
Tabela 4.3	Teor de água e índice de velocidade de hidratação (IVH) em sementes de cinco cultivares de soja, contrastantes quanto à cor e teor de lignina no tegumento.....	108
Tabela 4.4	Absorção de água (%) em sementes de cinco cultivares de soja, submetidas a onze períodos de hidratação.....	109
Tabela 4.5	Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os resultados de taxa de absorção de água nos 11 períodos de hidratação e índice de velocidade de hidratação com o teor de lignina e as variáveis de qualidade fisiológica, de sementes de cinco cultivares de soja avaliadas após seis meses de armazenamento em câmara fria e em ambiente não controlado	111

Tabela 4.6	Germinação (GER), viabilidade (TZ VIA) e vigor (TZ VIG) pelo teste de tetrazólio em sementes de soja, para efeito isolado de período de armazenamento, média de cinco cultivares, e efeito isolado de cultivar, média de dois períodos de armazenamento, em condições de câmara fria112
Tabela 4.7	Germinação, viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio de sementes de soja, em função de cultivar e período de armazenamento em condições de ambiente não controlado.....113
Tabela 5.1	Caracterização das cultivares utilizadas quanto aos metabólitos da via dos fenilpropanóides (cor, antocianina e teor de lignina no tegumento e teor de isoflavona em sementes)124
Tabela 5.2	Quadro de análise de variância para as características de qualidade fisiológica em sementes de soja, em função da cultivar e período de armazenamento em dois ambientes.....129
Tabela 5.3	Viabilidade (TZ VIA) e vigor (TZ VIG), avaliados pelo teste de tetrazólio, em sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria e ambiente não controlado.....130
Tabela 5.4	Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os teores de lignina e isoflavona com o potencial fisiológico (viabilidade e vigor), em sementes de cinco cultivares de soja, avaliadas anterior ao armazenamento (condição inicial) e após seis meses de armazenamento em câmara fria e em ambiente não controlado139

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1	ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DA SOJA	21
2.2	QUALIDADE DE SEMENTES.....	23
2.3	ARMAZENAMENTO DE SEMENTES	27
2.4	FATORES QUE AFETAM A DETERIORAÇÃO DAS SEMENTES AO LONGO DO ARMAZENAMENTO.....	29
2.4.1	Condições de Armazenamento	29
2.4.2	Condição Inicial da Semente.....	31
2.4.3	Cultivar	32
2.4.3.1	Metabólitos da rota dos fenilpropanóides.....	36
2.4.3.1.1	<i>Lignina</i>	37
2.4.3.1.2	<i>Antocianina</i>	39
2.4.3.1.3	<i>Isoflavona</i>	41
	REFERÊNCIAS	43
3	ARTIGO A – METABÓLITOS DA ROTA DOS FENILPROPANÓIDES E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE GENÓTIPOS DE SOJA NO ARMAZENAMENTO	64
3.1	RESUMO	64
3.2	ABSTRACT.....	65
3.3	INTRODUÇÃO	65
3.4	MATERIAL E MÉTODOS	68
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
3.6	CONCLUSÕES.....	93
3.7	REFERÊNCIAS	93

4	ARTIGO B – ABSORÇÃO DE ÁGUA E TOLERÂNCIA AO ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE SOJA COM CARACTERÍSTICAS CONTRASTANTES DE TEGUMENTO	100
4.1	RESUMO	100
4.2	ABSTRACT.....	101
4.3	INTRODUÇÃO.....	102
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	103
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	107
4.6	CONCLUSÕES.....	115
4.7	REFERÊNCIAS	115
5	ARTIGO C – POTENCIAL FISIOLÓGICO E METABOLISMO ANTIOXIDATIVO AO LONGO DO ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE SOJA CONTRASTANTES QUANTO A COMPOSTOS DA ROTA DOS FENILPROPANÓIDES	120
5.1	RESUMO	120
5.2	ABSTRACT.....	121
5.3	INTRODUÇÃO.....	122
5.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	124
5.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	129
5.6	CONCLUSÕES.....	140
5.7	REFERÊNCIAS	141
6	CONCLUSÕES GERAIS	147

1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja, *Glycine max* (L.) Merrill, apresenta grande destaque no cenário do agronegócio nacional e internacional, devido ao seu potencial produtivo e composição química, os quais lhe conferem multiplicidade de aplicações, principalmente, na indústria e na alimentação humana e/ou animal.

O Brasil está entre os maiores produtores de soja e se destaca em nível mundial em tecnologia de produção de sementes desta leguminosa, no entanto, melhorias no sistema produtivo ainda são necessárias. Dentre os desafios, destacam-se o incremento na utilização e produção de sementes de elevada qualidade, seleção e desenvolvimento de cultivares visando à qualidade de sementes pelos programas de melhoramento genético, bem como a conservação dessa qualidade durante a armazenagem.

A semente é um dos fatores que mais influenciam o potencial produtivo das culturas, uma vez que esta contém todos os atributos que interferem na adaptação de uma cultivar às condições ambientais às quais serão submetidas. Sementes de qualidade se caracterizam por apresentar elevado potencial fisiológico, tais como altas taxas de germinação e vigor, associada à pureza genética, física e sanitária. A utilização de sementes de elevada qualidade é necessária para a obtenção de uma lavoura com estande adequado e com plântulas vigorosas, contribuindo assim, para o alcance de altos índices produtivos.

Na entressafra, as sementes são submetidas a um período de armazenamento enquanto aguardam o momento adequado para instalação do próximo ciclo da cultura. Este assume papel fundamental na definição da qualidade da semente a ser entregue ao produtor, principalmente no Brasil, onde as regiões produtoras de soja estão em grande parte presentes em regiões tropicais e subtropicais. Nestas regiões, em virtude das elevadas temperaturas e alta umidade, tem-se dificuldade na manutenção da qualidade das sementes (germinação e principalmente vigor) ao longo do armazenamento.

Durante o armazenamento, a deterioração das sementes não pode ser impedida, entretanto a sua velocidade e a intensidade podem ser minimizadas. Com isso, produtores têm investido em técnicas de resfriamento das sementes ou

na climatização dos armazéns, através do controle de temperatura e umidade relativa do ar, visando à melhor conservação da qualidade das sementes.

Além disso, diferenças na longevidade de sementes entre cultivares de soja têm sido frequentemente constatadas, gerando preocupação no setor sementeiro.

Desta forma, é fundamental a identificação e o entendimento de características das sementes relacionadas com a qualidade e a sua longevidade. Em vista disso, esse estudo direciona-se a três metabólitos oriundos da rota dos fenilpropanóides: lignina, antocianina e isoflavona.

A lignina tem sido relacionada, principalmente, a permeabilidade do tegumento, a resistência das sementes a danos mecânicos e por umidade e ao ataque de pragas e doenças. Já a antocianina (pigmento responsável pela coloração preta em tegumentos de sementes de soja) e a isoflavona são relacionadas à qualidade das sementes, especialmente, devido ao seu potencial antioxidante.

Assim, esses compostos presentes no tegumento e no embrião das sementes de soja podem conferir melhor qualidade inicial e interagir de maneira positiva com as condições ambientais no período de armazenamento, proporcionando menor intensidade e velocidade de deterioração, resultando na melhor conservação das sementes. Contudo, há escassez de resultados conclusivos sobre a relação desses metabólitos com a qualidade de sementes, e, principalmente, com o processo de deterioração das mesmas durante o armazenamento.

Essas informações podem ser utilizadas como estratégia de planejamento para o armazenamento e a comercialização de sementes. Além disso, salienta-se a importância da interação desse conhecimento em sementes com os programas de melhoramento genético, a fim de obter cultivares produtivas, com elevada qualidade de sementes e elevado potencial de armazenamento.

Neste sentido, este trabalho visa contribuir para o esclarecimento das possíveis causas da diferença entre cultivares de soja nos níveis de deterioração e na conservação do potencial fisiológico durante o armazenamento. Com isso, o objetivo foi avaliar as alterações fisiológicas e bioquímicas ao longo do armazenamento em sementes de cultivares de soja contrastantes quanto a metabólitos da rota dos fenilpropanóides.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DA SOJA

A soja é uma leguminosa pertencente à família das Fabaceae (SEDIYAMA; TEIXEIRA; BARROS, 2009). É uma cultura cuja origem se atribui ao continente asiático, principalmente na região da Manchúria, na China. No entanto, a soja cultivada, *Glycine max* (L.) Merrill, difere-se dos ancestrais que lhe deram origem em muitas características (APROSOJA, 2014a; DALL'AGNOL; LAZAROTTO; HIRAKURI, 2010).

O processo de evolução iniciou-se com o aparecimento de plantas originadas de cruzamentos naturais entre duas espécies de soja selvagem, as quais foram posteriormente domesticadas e melhoradas (CISOJA, 2015; EMBRAPA, 2017). A domesticação da soja, no nordeste da China, se iniciou a cerca de 1100 anos A.C. (SEDIYAMA; TEIXEIRA; BARROS, 2009). Registros históricos demonstram que a expansão desta cultura no mundo foi lenta, sendo feita por intermédio de viajantes ingleses e imigrantes japoneses e chineses (MISSÃO, 2006).

Apenas no início do século XX a soja passou a ser cultivada comercialmente nos Estados Unidos, onde foi utilizada inicialmente como forrageira e, após como produtora de grãos (EMBRAPA, 2004). A partir de então, houve um rápido crescimento na produção, com o desenvolvimento das primeiras variedades comerciais (CHUNG; SINGH, 2008; MELO, 2005).

No Brasil, a introdução dessa cultura ocorreu em 1882, na Bahia. No ano de 1900, o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) promoveu a primeira distribuição de sementes de soja para produtores paulistas. Nesta mesma data, têm-se o registro do primeiro cultivo desta leguminosa no Rio Grande do Sul, onde a cultura encontrou as melhores condições para se desenvolver e expandir, em função da similaridade climática deste local com o clima do sul dos Estados Unidos, local de origem dos primeiros genótipos da soja brasileira (EMBRAPA, 2004; SEDIYAMA; TEIXEIRA; BARROS, 2009).

A expansão da soja no território brasileiro aconteceu a partir dos anos 70, com a crescente ampliação das indústrias de óleo e aumento da demanda internacional pelo grão (APROSOJA, 2014a; MISSÃO, 2006). Contudo, a expansão do seu cultivo para regiões com latitudes inferiores a 20 ° somente ocorreu devido ao

desenvolvimento de cultivares adaptadas a regiões de baixa latitude, a partir da incorporação de genes relacionados com o período juvenil (ALMEIDA et al., 1999; CAMPELO et al., 1999; TOLEDO et al., 1995). Devido a isso, atualmente, a soja é cultivada, praticamente em todo território nacional, desde as altas latitudes gaúchas até as baixas latitudes equatoriais tropicais (CÂMARA, 2017).

A cultura da soja é considerada um dos principais produtos do agronegócio a nível nacional e mundial, em virtude do seu potencial produtivo, da sua composição química e valor nutritivo, os quais lhe conferem multiplicidade de aplicações na alimentação humana e/ou animal (CARRÃO-PANIZZI; PIPOLO, 2007; LIMA et al., 2017; MAPA, 2017; MELO, 2005). Além disto, tem sido utilizada na produção de biocombustíveis e outros produtos, como cosméticos e fármacos (APROSOJA, 2014b; JARDINE; BARROS, 2015).

Na safra 2017/2018 a produção mundial de soja foi de aproximadamente 337 milhões de toneladas. Os Estados Unidos destacaram-se como maior produtor mundial, com área cultivada de 36 milhões de hectares (ha) e produção de aproximadamente 120 milhões de toneladas (USDA, 2018). No Brasil, de acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB (2018), a área cultivada foi de 35 milhões de ha, a produção de 118,9 milhões de toneladas, com média de produtividade de 3385 kg ha⁻¹. Os estados brasileiros com maior produção foram o Mato Grosso com cerca de 32 milhões de toneladas e o Paraná com 19 milhões de toneladas, com produtividades médias de 3394 kg ha⁻¹ e 3508 kg ha⁻¹, respectivamente. Ainda, em aproximadamente 96% da área cultivada do país foram utilizadas sementes com eventos transgênicos (CIB, 2018).

Para tanto, é necessário produzir e disponibilizar sementes de soja nos volumes demandados pela área cultivada em nosso país e com a qualidade desejada pelo consumidor de sementes (agricultor), o que exige infraestrutura e pessoal qualificado, envolvendo grandes investimentos (MENEGHELLO; PESKE, 2013). Atualmente a média nacional de taxa de utilização de sementes de soja está em torno de 71% e, para isso, o Brasil consome anualmente mais de dois milhões de toneladas de sementes (ABRASEM, 2016). O setor de sementes de soja é bastante competitivo e movimenta mais de dois bilhões de reais por ano, envolvendo mais de 200000 pessoas, sendo que desse montante é estimado que mais de 5000 sejam engenheiros agrônomos (MENEGHELLO; PESKE, 2013; PESKE, 2018).

Embora o Brasil apresente destaque na produção de soja, a sojicultura nacional precisa superar alguns desafios, principalmente devido à diversidade das condições edafoclimáticas do país, dentre estes, o incremento na utilização e produção de sementes de elevada qualidade, bem como garantir a conservação desta qualidade durante a armazenagem.

Para isso, é fundamental o conhecimento e a utilização de tecnologias específicas para a produção e conservação de sementes, atrelado a um sistema eficiente de controle de qualidade (FRANÇA NETO et al., 2016) e, programas de melhoramento genético que associem características relacionadas a qualidade de sementes com o desempenho agrônômico.

2.2 QUALIDADE DE SEMENTES

A qualidade de sementes é definida como a soma dos atributos de natureza genética, física, sanitária e fisiológica, que indicarão o seu potencial de desempenho em diferentes condições edafoclimáticas (MARCOS FILHO, 2015).

A utilização de sementes de qualidade é uma estratégia fundamental para o sucesso da lavoura, pois contribui para a obtenção de um estande adequado e com plântulas vigorosas, favorecendo o desenvolvimento das plantas e o alcance de elevadas produtividades (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2015; FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI; HENNING, 2010).

Além de comprometer a produtividade da lavoura, o uso de sementes de baixa qualidade, poderá resultar na necessidade de ressemeadura. Esta prática onera o custo de produção, além de poder gerar outros prejuízos, como semeadura em época não recomendada, favorecer o surgimento de doenças tardias, causar problemas de eficiência de herbicidas ou sobreposição de produtos na área e, muitas vezes, resultar em troca de cultivar, devido à indisponibilidade no mercado de sementes da cultivar desejada, o que poderá não atender às expectativas do agricultor (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; HENNING, 2018).

O atributo genético abrange a pureza varietal e as características intrínsecas da cultivar (PESKE; BARROS; SCHUCH, 2012). A semente é a responsável pela transferência do conjunto de inovações tecnológicas e dos ganhos genéticos resultantes dos programas de melhoramento, tradicionais ou por engenharia genética. Diversas características são incorporadas à cultura a fim de

atender as necessidades da cadeia produtiva, tais como: altura de plantas, ciclo de maturação, resistência a doenças e insetos, produtividade, estabilidade de produção, aptidão para o consumo humano e, mais recentemente e de forma menos explorada, a qualidade de sementes (DOMIT et al., 2007; MAMBRIN et al., 2015; SAGATA et al., 2009; SEDIYAMA; TEIXEIRA; BARROS, 2009; TOLEDO et al., 1995).

Em levantamento realizado para diagnosticar a qualidade de sementes de soja produzidas no Brasil nas safras de 2014/2015 e 2015/2016, observou-se, por meio de verificação de outras cultivares durante a análise de pureza, que em todas as regiões coletadas, as quais englobam nove (safra 2014/2015) e treze (safra 2015/2016) estados produtores do país, houve mistura genética (HENNING, 2016a; 2017). De acordo com Henning (2016a) esse resultado cabe de alerta para a necessidade de atenção nas vistorias nos campos de produção, visto que atualmente essa é a única medida exigida para garantir a qualidade genética das sementes de soja do país.

O atributo físico refere-se à condição física da semente (envolve o grau de umidade, danificações mecânicas, massa de mil sementes e aparência) e a pureza do lote (livre da presença de sementes de outras espécies e de materiais inertes, como pedras, terra, fragmentos de plantas e de sementes) (PESKE; BARROS, 2003; TALAMINI et al., 2011).

Esse componente pode ser afetado durante todo o processo de produção de sementes, contudo destacam-se as etapas da colheita mecanizada, o transporte e o beneficiamento, por causarem injúrias mecânicas, acarretando aumento do número de sementes quebradas, trincadas, arranhadas e internamente danificadas (AMARAL; DOBIS; CARVALHO, 2018; MARYAM; OSKOUIE, 2011; PINTO et al., 2012). A integridade física da semente é essencial, pois danificações mecânicas, além de prejudicar o aspecto físico, dependendo da região afetada da semente, podem também comprometer a qualidade fisiológica.

O atributo sanitário é determinado pela incidência de micro-organismos que causam danos às sementes, desde o campo até o armazenamento. Dentre os agentes patogênicos que podem associar-se às sementes, os fungos formam o maior grupo, seguido das bactérias e, em menor proporção, dos vírus e nematóides (MACHADO, 2000). Segundo França Neto et al. (2016) e Henning (2015), os principais fungos fitopatogênicos encontrados em sementes de soja são

Cercospora kikuchii, *Colletotrichum truncatum*, *Fusarium* spp. e *Phomopsis* sp.. Além destes, segundo estes autores, há os fungos de armazenamento, como *Aspergillus* spp. e o *Penicillium* sp..

A associação de fitopatógenos com sementes é responsável por danos significativos em cultivos comerciais, por reduzir a viabilidade das sementes, prejudicando o estabelecimento da cultura no campo e conseqüentemente a sua produtividade (LUCCA FILHO, 1985; TALAMINI et al., 2011). Além disso, essa associação representa uma maneira eficiente de introdução (ou reintrodução) e disseminação de patógenos em áreas indenidas (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; HENNING, 2018).

Portanto, o uso de sementes com elevada qualidade sanitária é uma das principais medidas de controle de doenças e constitui um dos fatores primordiais para a obtenção do estado de plantas almejado (AMODU; AKU, 2015; HENNING et al., 2014; SHELAR; SHAIKH; NIKAM, 2008).

O potencial fisiológico está relacionado à capacidade da semente em desempenhar suas funções vitais, reunindo informações sobre a germinação, o vigor e a longevidade das mesmas. Contudo, vários fatores podem afetá-lo, como a ocorrência de insetos e micro-organismos nocivos, o genótipo, as condições meteorológicas durante o desenvolvimento das sementes, a nutrição da planta-mãe, a época e o manejo durante a colheita, a ocorrência de injúrias mecânicas, as operações de secagem e beneficiamento, o tratamento químico e as condições e o período de armazenamento (FRANÇA NETO et al., 2016; MARCOS FILHO, 2015).

França Neto (2016) na safra de 2014/2015 e França Neto, Krzyzanowski e Pádua (2017) na safra de 2015/2016 verificaram, em levantamento realizado em diversas regiões brasileiras, que o dano mecânico (classe tetrazólio 6-8) mostrou-se como o principal fator que afetou negativamente a qualidade das sementes de soja, com índice médio brasileiro de danificação de 6,8% (safra 2014/2015) e 5,8% (safra 2015/2016). Segundo esses autores, há necessidade de que o manejo, principalmente da colheita, seja melhorado a fim de reduzir esses índices.

Ainda, conforme dados do levantamento citado anteriormente, o dano de deterioração por umidade foi o segundo fator que mais afetou a qualidade de sementes de soja, com índice médio brasileiro de danificação de 3,0% na safra 2014/2015 (FRANÇA NETO, 2016) e de 3,3% na safra 2015/2016 (FRANÇA NETO;

KRZYŻANOWSKI; PÁDUA, 2017). Esse dano é resultado da exposição da semente de soja a ciclos alternados de elevada e baixa umidade antes da colheita, em virtude da ocorrência de chuvas ou de flutuações diárias de alta e baixa umidade relativa do ar (FRANÇA NETO, 2016). Esses danos (umidade e mecânico) prejudicam a qualidade fisiológica e comprometem o potencial de armazenamento das sementes.

A utilização de sementes com elevada qualidade fisiológica propicia germinação rápida e uniforme, favorecendo o crescimento da parte aérea e do sistema radicular, evitando a presença de plantas dominadas (subdesenvolvidas), contribuindo assim, para o alcance de altos níveis de produtividade (BEWLEY et al., 2013; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Além disso, lotes de sementes com alto vigor apresentam maior probabilidade de sucesso, caso o ambiente na época de semeadura e durante o período de armazenamento não seja favorável.

Kolchinski, Schuch e Peske (2005), Schuch, Kolchinski e Finatto (2009) e Scheeren et al. (2010) observaram que plantas de soja oriundas de sementes de alta qualidade fisiológica apresentaram rendimento de grãos de 35, 25 e 9% superior às obtidas com o uso de sementes de baixa qualidade, respectivamente.

Lotes de sementes menos vigorosas apresentam menor porcentagem e velocidade de emergência de plântulas, podendo comprometer o estande da cultura, principalmente quando a densidade de semeadura é próxima ao limite mínimo recomendado, e ainda, comumente, há perda de produtividade (ABATI et al., 2017; KOLCHINSKI; SCHUCH; PESKE, 2005; MARCOS FILHO, 2013; TOLEDO et al., 2009).

A partir disso, ressalta-se a importância da produção e utilização de sementes com todos os atributos relacionados a qualidade, a fim da obtenção de sucesso no empreendimento agrícola. Apesar de serem fatores distintos, a ação e a interação de todos esses atributos que compõe a qualidade irão afetar a intensidade e a velocidade de deterioração das sementes, conseqüentemente, o potencial de armazenamento, o estabelecimento do estande de plantas, o crescimento e o potencial produtivo da cultura.

2.3 ARMAZENAMENTO DE SEMENTES

Após a colheita, as sementes passam por vários processos como secagem e beneficiamento e, na entressafra, são submetidas a um período de armazenamento, que no caso da soja, varia de seis a oito meses. Segundo Meneghello (2014) o armazenamento tem como objetivo a preservação da qualidade das sementes, até o momento ideal para a semeadura.

Salienta-se que o armazenamento inicia quando as sementes atingem a maturidade fisiológica e se encerra com a semeadura e início dos processos de germinação. Assim, até o momento da colheita a semente fica “armazenada a campo” e após a colheita, o armazenamento ocorre em diferentes locais de acordo com a evolução do beneficiamento, e, por fim, no local onde permanecerá até o momento da sua semeadura (LABBÉ; VILLELA, 2012), o qual será estudado nesse trabalho.

As sementes de soja são classificadas em ortodoxas, ou seja, podem ser submetidas à secagem até atingir baixos teores de água e toleram exposição a temperaturas relativamente baixas, sem a ocorrência de danos ao metabolismo durante o armazenamento (MARCOS FILHO, 2015).

No Brasil, o armazenamento de sementes de soja normalmente é realizado a granel ou em sacos sob condições ambientais naturais ou controladas de temperatura e/ou umidade relativa (UR) do ar. O armazenamento a granel é mais utilizado na etapa anterior ao beneficiamento das sementes e, é feito em silos cilíndricos metálicos, de madeira ou concreto. As sementes armazenadas a granel podem permanecer dias ou meses nos silos, contudo essas devem estar limpas e secas (PESKE; BAUDET; VILLELA, 2013).

O armazenamento em sacos é realizado após o beneficiamento das sementes, em virtude das sementes serem comercializadas de tal maneira. Os sacos geralmente são embalagens porosas e semipermeáveis, as quais permitem trocas de umidade e temperatura das sementes com o ar ambiente (LUDWIG, 2017; PESKE; BAUDET; VILLELA, 2013).

O armazenamento em condições adequadas assume um papel importante, principalmente no Brasil, onde as regiões produtoras de soja estão em grande parte presentes em regiões tropicais e subtropicais (FRANÇA NETO, 2016). Nestas regiões, elevadas temperaturas e alta umidade dificultam a manutenção da

qualidade das sementes durante o armazenamento em ambiente não controlado (sob condições ambientais naturais, sem controle de temperatura e UR do ar).

Com isso, como alternativa, algumas empresas/produtores de sementes estão investindo na climatização dos armazéns, através do controle de temperatura e UR do ar, visando à conservação e garantia de elevados padrões de germinação e vigor de sementes. A temperatura e UR do ar utilizadas variam conforme as empresas, com valores médios de temperatura e UR do ar, de 10 a 12 °C e 50 a 60% (empresas com maior rigor de produção) e de 18 a 22 °C e 70 a 80%.

Contudo, de acordo com Henning (2016b), muitas vezes, o agricultor no impulso de ter determinada cultivar acaba se antecipando para retirar o material da sementeira e armazena em sua propriedade em condições inadequadas, as quais, dependendo do período de exposição, prejudicam gravemente a germinação e o vigor das sementes. Diante de tal situação, o produtor deve solicitar a entrega da semente o mais próximo possível da semeadura ou, então, armazenar a semente em ambiente controlado (climatizado) em sua propriedade, se caso as condições ambientais forem inadequadas (HORN, 2017).

A partir da maturidade fisiológica e, conseqüentemente, durante o período de armazenamento inicia-se a deterioração das sementes, na qual ocorre uma série de alterações fisiológicas, físicas e bioquímicas, que reduzem o potencial de desempenho e culminam com a morte das mesmas (JYOTI; MALIK, 2013; SISMAN, 2005; VILLELA; MENEZES, 2009).

Segundo Delouche e Baskin (1973), a deterioração das sementes segue uma sequência hipotética que envolve, na seguinte ordem, a degradação das membranas celulares, redução das atividades respiratórias e biossintéticas, menor velocidade de germinação, redução do potencial de conservação, menor taxa de crescimento e desenvolvimento, menor uniformidade de desempenho, maior sensibilidade a adversidades, redução da emergência de plântulas em campo, aumento no número de plântulas anormais e, por último, a perda do poder germinativo.

Esse processo é inevitável e irreversível, contudo pode ser retardado dependendo das condições de armazenamento e das características da semente (CARDOSO; BINOTI; CARDOSO, 2012; KAPOOR et al., 2011; VIDIGAL et al., 2016).

2.4 FATORES QUE AFETAM A DETERIORAÇÃO DAS SEMENTES AO LONGO DO ARMAZENAMENTO

A velocidade e a intensidade de deterioração durante o armazenamento dependem da ação de vários fatores, entre os quais, destacam-se: qualidade inicial das sementes, composição química, condições de secagem, grau de umidade, UR e temperatura do ar de armazenamento, ação de fungos e insetos, tipos de embalagens e tratamento de sementes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; FERREIRA; BORGHETTI, 2004; JYOTI; MALIK, 2013; RAO; DULLOO; ENGELS, 2016; SELVI; SARASWATHY, 2017).

2.4.1 Condições de Armazenamento

A semente é higroscópica, portanto seu teor de água está em equilíbrio com a UR do ar, sob temperatura específica do ambiente de armazenamento. Com isso, embora existam vários fatores que influenciam a deterioração e conseqüentemente a longevidade das sementes, os mais importantes são a UR e a temperatura do ambiente de armazenamento (ALHAMDAN et al., 2011; ALI et al., 2017; BEWLEY et al., 2013).

A temperatura e a UR do ar estão relacionadas, logo o efeito de uma depende da outra (SINGH; PAROHA; MISHRA, 2017). Com isso, para aumentar a longevidade das sementes, tanto a temperatura quanto à umidade (do ar e das sementes) devem ser reduzidas (MENEGHELLO, 2014; MOHAMMADI et al., 2011; ULLMANN et al., 2015), visto que a associação entre elevadas temperatura e teor de água das sementes favorecem os processos respiratórios e a atividade de micro-organismos e de insetos nocivos as sementes.

Quando o teor de água das sementes se encontra acima de 13,5%, comumente são encontrados os fungos de armazenamento, principalmente dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (FRANÇA NETO et al., 2016; HENNING, 2015). Corroborando esta afirmação, Cardoso et al. (2004) observaram aumento na incidência desses fungos durante o período de armazenamento, em sementes de soja com teor de água inicial de 14%, com predominância do gênero *Aspergillus*.

A incidência de fungos durante o armazenamento representa um problema econômico relevante ao setor sementeiro, sendo uma das principais causas de perdas de qualidade de sementes. Os principais efeitos da contaminação

fúngica são: produção de calor, provocado pelo aumento da respiração das sementes, alterações nas constituições de reservas, diminuição do vigor e viabilidade, descoloração e redução da massa das sementes, produção de micotoxinas, entre outros (BEGUM; VENUDEVAN; JAYANTHI, 2013; BEWLEY et al., 2013; DHINGRA; SILVA JUNIOR; RODRIGUES, 2013).

Além dos fungos, a qualidade das sementes pode ser afetada por insetos-pragas, que são os principais responsáveis pela deterioração física de um lote de sementes durante o armazenamento. Em sementes de soja destacam-se: *Lasioderma serricorne*, *Ephestia elutella*, *Oryzaephilus surinamensi* e *Cryptolestes ferrugineus* (LORINI et al., 2015).

Essas espécies de insetos-pragas consomem as reservas das sementes, reduzindo seu peso e também desencadeiam outros processos, como a elevação da temperatura da massa de sementes, devido à intensificação da taxa respiratória, o que favorece o desenvolvimento de fungos e contribui com a aceleração do processo de deterioração (MARCOS FILHO, 2015).

A atividade desses insetos-pragas é influenciada pelas condições do ambiente de armazenagem, de modo que temperaturas na faixa de 23 a 35 °C e teores de água das sementes de 12 a 15% são condições favoráveis ao desenvolvimento de praticamente todos esses insetos (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Desta forma, o armazenamento de sementes em ambiente climatizado, com controle de temperatura e umidade relativa (UR), recomendado 10 °C e 50%, respectivamente, é o ideal para a preservação da qualidade das sementes (FRANÇA NETO et al., 2016). Contudo, grande parte das sementeiras que apresentam armazéns climatizados, utilizam temperaturas acima de 10 °C, devido ao alto custo energético demandado por essas condições.

Segundo Demito e Afonso (2009) a redução da temperatura é uma técnica economicamente viável para preservar a qualidade das sementes armazenadas. Forti, Cícero e Pinto (2010) verificaram por meio de testes de germinação e vigor, que o ambiente de armazenamento não controlado ocasionou maior redução do potencial fisiológico nas sementes de soja, em comparação com a câmara seca (50% UR e 20 °C) e câmara fria (65% UR e 10 °C). Barbosa et al. (2010a) observaram redução no vigor das sementes de soja durante os seis meses de armazenamento com temperatura de 23 °C e UR do ar de 60%.

Simic et al. (2007) verificaram reduções na qualidade fisiológica e no teor de óleo de sementes de soja, girassol e milho ao longo do armazenamento, com maiores decréscimos nas sementes armazenadas nas condições de 25 °C e 75% UR em relação as armazenadas a 12 °C e 60% UR. Resultados similares foram encontrados por Braccini et al. (2000), os quais observaram redução nos teores de óleo e proteína em sementes de soja armazenadas sob condições ambientais naturais, sem controle de temperatura e UR do ar.

O armazenamento de sementes em condições ambientais também é possível, dependendo das condições climáticas da região onde está inserido o armazém e, se forem tomadas certas precauções no desenho da estrutura do mesmo. Krzyzanowski et al. (2015) sugerem que as condições de temperatura e UR do ar do armazém de sementes devem ser menor que 25 °C e 70%, respectivamente.

2.4.2 Condição Inicial da Semente

A qualidade inicial das sementes é afetada por diversos fatores, entre eles: condição meteorológica, principalmente na fase de enchimento da semente e no período compreendido entre a maturidade fisiológica e a colheita, ataque de insetos e fungos, colheita, transporte, beneficiamento e secagem (GOLDFARB; QUEIROGA, 2013; GRIS et al., 2010; VILLELA; MENEZES, 2009). O comportamento das sementes perante o armazenamento depende da sua qualidade inicial e da soma dos seus atributos fisiológicos, genéticos, físicos e sanitários.

Timóteo e Marcos Filho (2013) verificaram que lotes de sementes com maior potencial fisiológico inicial apresentaram menor intensidade de deterioração durante o armazenamento quando comparadas a lotes de menor potencial. Assim, de modo geral, um lote de sementes de maior qualidade inicial apresenta maior potencial de armazenamento em relação a lotes de menor qualidade.

As sementes de soja são bastante sensíveis à ação de fatores do ambiente, em virtude das suas características morfológicas. Uma vez que as estruturas vitais do embrião, como radícula, hipocótilo e plúmula, estão situadas sob o tegumento pouco espesso, que praticamente não lhes oferece proteção (FRANÇA NETO; HENNING, 1984).

Em sementes de soja os danos por umidade e mecânicos são apontados como uma das principais causas da redução da qualidade de sementes durante o armazenamento. O dano por umidade é progressivo e mais acentuado ao longo do armazenamento, quando comparado aos demais danos associados à semente de soja, como os mecânicos e por insetos (FRANÇA NETO et al., 2007).

Forti, Cícero e Pinto (2010) verificaram evolução dos danos por umidade e, conseqüentemente, redução do potencial fisiológico durante o armazenamento, com efeitos mais pronunciados nas sementes armazenadas em ambiente não controlado e menores nas armazenadas em câmara fria (65% UR e 10 °C).

Moreano et al. (2013) e Terasawa et al. (2009) observaram aumento do dano mecânico durante o período de armazenamento de sementes de soja. Resultados similares foram encontrados por Neves et al. (2016) e Vendramim (2015), os quais também verificaram que sementes de soja com danificações mecânicas apresentaram reduções mais acentuadas da qualidade fisiológica ao longo do armazenamento.

As sementes mecanicamente afetadas apresentam maior velocidade de deterioração durante o armazenamento, pois os danos interferem na taxa de respiração e permitem a entrada de micro-organismos (JYOTI; MALIK, 2013; SHELAR, 2008).

Além disso, a velocidade de deterioração das sementes ao longo do armazenamento é afetada pelo teor de água inicial das sementes (JYOTI; MALIK, 2013; SMANIOTTO et al., 2014), pela sanidade (RAO; DULLOO; ENGELS, 2016; SHELAR, 2008), ingrediente ativo e volume dos produtos utilizados no tratamento químico de sementes (BORTOLETTO et al., 2017; BRZEZINSKI et al., 2015; CAMILO et al., 2017), entre outros fatores.

2.4.3 Cultivar

Segundo dados do Registro Nacional de Cultivares atualmente há 1891 cultivares de soja registradas (MAPA, 2018). O país possui mais de 15 programas de melhoramento vegetal específicos para soja, oito dos quais concentram mais de 80% do *market share* (fração do mercado) (PESKE, 2016). Este cenário evidencia a relevância do setor sementeiro de soja no país.

Entretanto, tem-se verificado que algumas cultivares de soja, apesar de altamente produtivas, apresentam respostas diferenciadas quanto à qualidade e a longevidade de sementes. Neste contexto, Carvalho et al. (2014) e Rosa et al. (2017) observaram que cultivares de soja apresentam diferentes níveis de tolerância ao armazenamento.

As diferenças na conservação do potencial fisiológico ao longo do armazenamento de sementes de soja sob influência das cultivares utilizadas têm provocado preocupação para o setor sementeiro e um desafio para os programas de melhoramento. Assim, faz-se necessário estudo sobre as características das sementes, tais como aspectos físicos e composição química do embrião e do tegumento, e sua relação com o processo de deterioração.

Sementes de diferentes espécies, bem como cultivares distintas de soja, apresentam variabilidade em sua composição química, com reflexos sob o potencial fisiológico. A composição química influencia quali-quantitativamente na disponibilidade de compostos de pronta utilização pelo eixo embrionário, afetando o processo germinativo das sementes (FERRARESI; VILLELA; AUMONDE, 2014; SEYYEDI et al., 2015; ZAMBIAZZI et al., 2014).

Henning et al. (2010) verificaram que sementes de soja com maiores conteúdos de proteínas solúveis, amido e açúcares solúveis apresentam maior capacidade de mobilização de reservas na germinação, resultando em plântulas com melhor desempenho inicial.

Ainda, a composição química afeta o potencial de armazenamento das sementes, influenciando a velocidade e a intensidade de deterioração. O teor de proteínas está relacionado ao potencial de armazenamento, devido à afinidade dessa substância pela água. Além disso, destaca-se que sementes oleaginosas são mais propensas à deterioração do que as amiláceas, devido a menor estabilidade química dos lipídios em relação ao amido (FANAN et al., 2009; MARCOS FILHO, 2015).

Em sementes oleaginosas a peroxidação de lipídios e a formação de radicais livres são as principais causas de deterioração durante o armazenamento (BALEŠEVIĆ-TUBIĆ et al., 2005; SHABAN, 2013). A peroxidação de lipídios pode resultar na destruição de lipídios das membranas, ataque de radicais livres e formação de produtos tóxicos (JYOTI; MALIK, 2013; SCHWEMBER; BRADFORD, 2010; TRAWATHA; TEKRONY; HILDEBRAND, 1995).

As espécies químicas na forma de radicais livres centradas no oxigênio são de grande importância, uma vez que a partir dessas podem ser geradas as espécies reativas de oxigênio (EROs), envolvendo outros átomos (RIBEIRO et al., 2005).

As principais EROs são: ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (OH^*) e oxigênio singleto (1O_2) (BHATTACHARJEE, 2012; D'AUTRÉAUX; TOLEDANO, 2007; PITZSCHKE; FORZANI; HIRT, 2006). Em condições de estresse durante o armazenamento das sementes, como elevada temperatura e UR do ar e ataque de patógenos e insetos, há maior produção das EROs. Segundo Barbosa et al. (2010b) o acúmulo dessas substâncias nas células provoca o estresse oxidativo.

Para a proteção contra os efeitos das EROs, as sementes apresentam sistemas de defesa antioxidantes. Tais sistemas têm a função de inibir e/ou reduzir os danos causados as células, através de mecanismos que evitem a formação de radicais livres ou que promovam o sequestro ou a degradação dessas moléculas (BARBOSA et al., 2010b; HAJIBOLAND, 2014; SERKEDJIEVA, 2011). Os sistemas antioxidantes apresentam mecanismos de defesa variados e, envolvem agentes não enzimáticos e enzimáticos (DAVAR; DARVISHZADEH; MAJD, 2013). Entretanto, há variação no tipo e na quantidade de agentes antioxidantes presentes em sementes de diferentes espécies (SAISANTHOSH et al., 2018), bem como entre cultivares da mesma espécie.

Entre os agentes antioxidantes não enzimáticos destacam-se o ácido ascórbico, os caretonóides, os flavonoides, a glutathione e o tocoferol (BARBOSA et al., 2014; COLVILLE et al., 2015; GILL; TUTEJA, 2010).

Dentre os agentes enzimáticos, destacam-se as enzimas superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT). A SOD está presente em todos os organismos aeróbicos e é uma das enzimas antioxidantes mais eficazes. Esta enzima fornece a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos das EROs. A SOD catalisa a dismutação de dois radicais O_2^- , na qual um O_2^- é reduzido a H_2O_2 e outro oxidado a O_2 (DINAKAR; DJILIANOV; BARTELS, 2012; GILL; TUTEJA, 2010). Já, a CAT possui um mecanismo eficiente para remover o H_2O_2 formado nas células sob condições de estresse. Esta metaboliza o H_2O_2 em H_2O e O_2 (MALLICK; MOHN, 2000; LEUNG, 2018; SAISANTHOSH et al., 2018).

As enzimas antioxidativas desempenham importante papel durante o armazenamento das sementes (HOSAMANI et al., 2013), entretanto, segundo Copeland e McDonald (2001) com a evolução do processo deteriorativo essas enzimas tornam-se menos eficientes para exercer a sua atividade catalítica. Assim, as alterações na atividade enzimática podem ser um indicativo de redução do potencial fisiológico das sementes.

Carvalho et al. (2014) ao avaliarem seis cultivares de soja, verificaram que estas apresentaram diferentes níveis de tolerância ao armazenamento e variação nas expressões enzimáticas. Além disso, observaram incremento na atividade da SOD aos dois e quatro meses de armazenamento, em câmara fria (10 °C e 50% UR) e em ambiente não controlado. Entretanto, após seis meses de armazenamento sob condições não controladas constataram que a expressão da SOD e a qualidade fisiológica das sementes diminuíram, enquanto que, para as sementes armazenadas em câmara fria esse comportamento não foi observado.

Sharma et al. (2013) observaram acréscimos da peroxidação lipídica durante o armazenamento de sementes de soja, os quais foram associados a diminuição da atividade das enzimas CAT e peroxidase. De maneira semelhante, Lehner et al. (2008) associaram a perda de viabilidade em sementes de trigo com aumento de H₂O₂ e a baixa atividade da SOD e da CAT, quando essas foram submetidas a alta temperatura e UR.

Lee et al. (2010a) verificaram que a superexpressão das enzimas SOD e ascorbato peroxidase resultou em aumento da longevidade de sementes de *Nicotiana tabacum*, por atenuar os efeitos do estresse oxidativo produzido pelas condições ambientais e pelo período do armazenamento.

Essa estratégia de superexpressão de enzimas antioxidantes pode ser aplicada em sementes de soja. Entretanto, nessas sementes, ainda não está totalmente elucidado quais enzimas antioxidantes atuam contra o estresse oxidativo durante o armazenamento. Assim, o passo inicial é a identificação e melhor compreensão dessas enzimas, para após, serem aplicadas técnicas como a proposta por Lee et al. (2010a).

Além dos compostos mencionados anteriormente, existem outros que merecem ser investigados devido a sua importância sobre a qualidade de

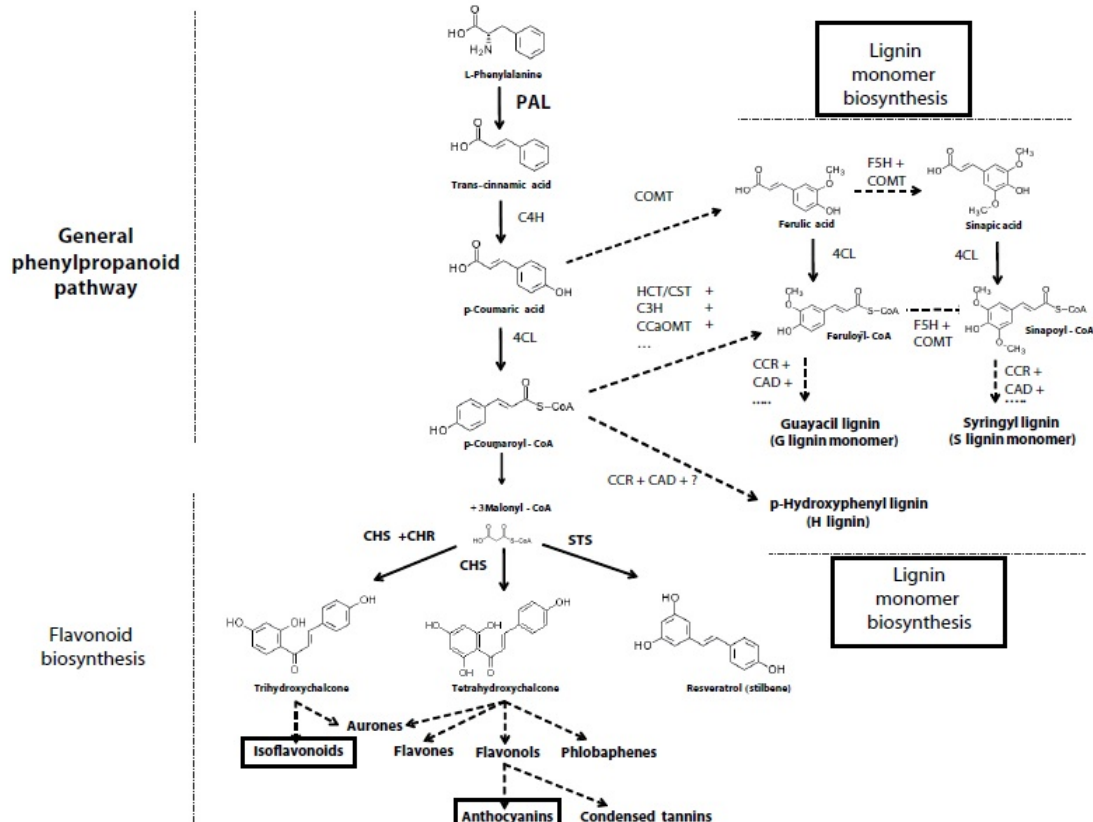
sementes e possíveis relações com o processo deteriorativo, como os metabólitos oriundos da rota dos fenilpropanóides.

2.4.3.1 Metabólitos da rota dos fenilpropanóides

Os fenilpropanóides são amplamente distribuídos no reino vegetal (KURKIN, 2003) e tem atraído à atenção de pesquisadores devido estarem envolvidos na regulação de vários aspectos fisiológicos das plantas, como a pigmentação da semente e da flor, tolerância a estresses bióticos e abióticos, entre outros (ROCK, 2017; VALDÉS-LÓPEZ; HERNÁNDEZ, 2014).

A rota dos fenilpropanóides se inicia com a desaminação da fenilalanina em ácido transcinâmico, catalisada pela enzima fenilalanina amônia-liase (PAL). Após, o ácido transcinâmico é hidroxilado em ácido *p*-cumárico pela ação da enzima cinamato 4-hidroxilase (C4H), o qual é convertido em *p*-cumaril CoA pela enzima 4-cumarato CoA ligase (4CL). A partir dessa etapa, pela ação de diversas enzimas, os caminhos bioquímicos se ramificam, gerando vários metabólitos, os quais incluem a lignina, a antocianina e a isoflavona (Figura 2.1) (LIU; OSBOURN; MA, 2015; ROCK, 2017; VOGT, 2010), compostos estudados nesse trabalho.

Figura 2.1 – Representação esquemática da rota dos fenilpropanóides. Setas sólidas indicam uma reação enzimática de passo único e setas tracejadas múltiplas sequenciais reações enzimáticas. Enzimas: PAL (fenilalanina amônia-liase); C4H (cinamato 4-hidroxilase); 4CL (4-cumarato CoA ligase); COMT (ácido caféico O-metiltransferase); HCT/CST (hidroxicinamoil-CoA: chiquimato/quinato hidroxicinamoil-transferase); C3H (*p*-cumarato-3-hidroxilase); CCoAOMT (cafeoil-Coa 3-O-metiltransferase); CCR (cinamoil-Coa redutase); CAD (cinamoil álcool desidrogenase); F5H (ferulato 5-hidroxilase); CHS (chalcona sintase); CHR (chalcona redutase) e STS (estilbeno sintase).



Fonte: adaptado de Emiliani et al. (2009).

2.4.3.1.1 Lignina

A lignina é formada através do acoplamento oxidativo de monômeros de álcoois hidroxicinamílicos, denominados monolignóis. Os monolignóis: álcoois de *p*-cumaril, coniferil e sinapil são derivados dos ácidos *p*-cumárico, ferúlico e sinápico, respectivamente. O álcool *p*-cumaril é à base da unidade da lignina *p*-hidroxifenil (H), o álcool coniferil da lignina guaiacil (G) e o álcool sinapil da lignina siringil (S) (BOERJAN; RALPH; BAUCHER, 2003; WENG; CHAPPLE, 2010; YOON; CHOI; AN, 2015). As proporções desses álcoois na lignina variam entre as espécies e tecidos vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2013; WANG et al., 2013).

A lignina é constituinte da parede celular e responsável pela manutenção da integridade e coesão estrutural das fibras vegetais (LI et al., 2009; TAIZ; ZEIGER, 2013; ZHAO; DIXON, 2011). A deposição de lignina é importante não só por propiciar rigidez aos tecidos vegetais da planta, como folha e caule, mas também para o tegumento de sementes de soja, com reflexos na qualidade das mesmas.

O tegumento é a estrutura externa da semente que desempenha funções de proteção ao eixo embrionário e ao tecido de reserva contra agentes de natureza abiótica, biótica, mecânica ou química, mantém unidas as partes internas da semente, controla a velocidade de hidratação e de trocas gasosas entre a semente e o meio e, também regula a germinação (MARCOS FILHO, 2015; MILLER et al., 2010; RADCHUK; BORISJUK, 2014). Assim, a qualidade de sementes de soja está diretamente associada às características do tegumento das mesmas, as quais são variáveis entre os genótipos.

As sementes de soja podem apresentar três tipos de tegumentos quanto à sua permeabilidade: o permeável, o semipermeável e o impermeável, predominando os dois primeiros. O tegumento permeável tem como principal característica a facilidade de embebição, já o tegumento semipermeável, restringe, em diferentes níveis, a embebição de água pela semente (BAHRY, 2014; HENNING, 2007).

A semipermeabilidade do tegumento é uma característica importante no que se refere à suscetibilidade da semente à deterioração no campo e apresenta influência direta no potencial de armazenamento das sementes, na resistência ao ataque de pragas, doenças e nos danos mecânicos e por embebição (FRANÇA NETO et al., 2000; SOUZA; MARCOS FILHO, 2001).

A composição química, arranjo estrutural e substâncias intercelulares presentes nas camadas do tegumento irão determinar o grau de permeabilidade do mesmo (BEWLEY et al., 2013; QUTOB et al., 2008; SHAO et al., 2007; VU; VELUSAMY; PARK, 2014). Neste contexto, tem se relatado a influência da lignina sobre essa característica (BELLALOUI; SMITH; MENGISTU, 2017; KUCHLAN; DADLANI; SAMUEL, 2010; SMÝKAL et al., 2014).

De acordo com França Neto et al. (2000) o alto teor de lignina no tegumento confere as sementes menor permeabilidade, tornando-as menos suscetíveis a deterioração. Corroborando essa informação, Castro et al. (2016) e

Huth et al. (2016) observaram que sementes de soja com maior teor de lignina no tegumento apresentam maior tolerância à deterioração por umidade em pré-colheita.

Ainda, quanto à relação da lignina com os atributos que compõe a qualidade de sementes, Carbonell e Krzyzanowski (1995) encontraram correlação positiva entre o teor de lignina e a resistência ao dano mecânico em 12 cultivares de soja. Resultados similares quanto a maior resistência ao dano mecânico foram encontrados por Capeleti et al. (2005) e Kuchlan et al. (2018).

Menezes et al. (2009) constataram que o maior teor de lignina está associado a maior porcentagem de plântulas normais no teste de envelhecimento acelerado. Mertz-Henning et al. (2015) verificaram menores valores de condutividade elétrica em sementes de soja com maior teor de lignina.

Segundo Li et al. (2009) e Tavares et al. (1987) a lignina pode atuar na defesa contra o ataque patógenos. Contudo, Dantas et al. (2012) concluíram que não há interferência do teor de lignina no tegumento na resistência a infecção pelo fungo *Aspergillus flavus*.

Estudos realizados por Marwanto e Marlinda (2003), a fim de verificar diferenças entre genótipos com variações no teor de lignina na deterioração de sementes de soja ao longo do armazenamento, demonstraram que o teor de lignina no tegumento apresentou correlação negativa com a deterioração das membranas, associado à redução da qualidade de sementes após o armazenamento. Apesar desses autores relatarem que a lignina está associada ao processo deteriorativo, verifica-se que praticamente a totalidade dos trabalhos disponíveis na literatura relacionam o teor de lignina com a qualidade das sementes, havendo escassez de informações sobre a atuação desse metabólito na capacidade de conservação dessa qualidade ao longo do armazenamento das sementes. Assim, ainda há muito a compreender sobre a correlação entre esses fatores.

2.4.3.1.2 Antocianina

As sementes de soja podem apresentar tegumento de diversas cores, como preta, marrom e amarela. Entretanto, quase a totalidade das cultivares comerciais de soja apresentam tegumento de coloração amarela.

A pigmentação do tegumento de sementes de soja é controlada por três *loci* independentes (*I*, *R* e *T*). O *locus I* controla a distribuição de pigmentos de

antocianina e proantocianidina. A presença do alelo dominante (*I*) causa a inibição total do acúmulo desses pigmentos, com o alelo *i* a pigmentação é restrita ao hilo, com *i^k* ocorre à pigmentação no hilo e em parte do tegumento e o *i* permite a pigmentação completa da semente. A interação dos alelos dos *loci* *R* e *T*, os quais também controlam a cor de pubescência, são responsáveis pelas colorações preta, marrom e camurça do tegumento e do hilo. Com isso, o tegumento de sementes de soja é amarelo (presença do alelo dominante *I*), preto (*i, R, T*), preto imperfeito (*i, R, t*), marrom (*i, r, T*) ou camurça (*i, r, t*) (ZABALA; VODKIN, 2003; 2014).

Assim, o diferencial mais conhecido da soja preta em comparação a amarela é a presença de antocianinas no tegumento dessas sementes (MALENCIC; CVEJIC; MILADINOVIC, 2012; SLAVIN; KENWORTHY; YU, 2009).

Lee et al. (2009) identificaram nove derivados de antocianina em sementes de soja com tegumento preto (cultivar Cheongja 3), incluindo, delfinidina-3-*O*-galactosídeo, delfinidina-3-*O*-glicosídeo, cianidina-3-*O*-galactosídeo, cianidina-3-*O*-glicosídeo, catequina-cianidina-3-*O*-glicosídeo, petunidina-3-*O*-glicosídeo, pelargonidina-3-*O*-glicosídeo, peonidina-3-*O*-glicosídeo e cianidina.

Diversos estudos têm relacionado à coloração do tegumento com a qualidade de sementes. Neste contexto, Bahry et al. (2017) verificaram que sementes com tegumento preto apresentaram qualidade fisiológica superior em relação às sementes com tegumento amarelo.

Mertz et al. (2009) ao avaliarem dois genótipos de soja, um com tegumento amarelo e permeável, e outro com tegumento preto e semipermeável, verificaram que existem diferenças estruturais dos tegumentos, as quais podem estar relacionadas à diferença da permeabilidade dos tegumentos e indiretamente relacionadas à qualidade das sementes.

Asiedu e Powell (1998) e Santos et al. (2007) constataram que sementes com tegumentos com pigmentação escura apresentaram uma menor taxa de embebição em relação às sementes com tegumento amarelo. De acordo com Santos et al. (2007) esse resultado é relacionado aos teores de lignina no tegumento dessas sementes.

França Neto et al. (1999) verificaram maior teor de lignina nos tegumentos de sementes de coloração escura (12,18%) em relação as de tegumento amarelo (4,75%), conferindo melhor qualidade nas sementes com teores mais elevados.

Ainda, tem sido constatado que sementes de tegumento preto influenciam o desenvolvimento de fungos (LIU et al., 2017). Lorini et al. (2018) ao avaliarem a preferência alimentar das pragas de sementes armazenadas, *Rhizopertha dominica*, *Sitophilus oryzae* e *Lasioderma serricorne*, a diferentes genótipos de soja com variação na cor e teor de lignina no tegumento durante o armazenamento, constataram que a cor do tegumento e o teor de lignina não interferiu nos danos das pragas, principalmente para *L. serricorne*.

Além disso, várias pesquisas demonstraram que sementes de soja com tegumento preto possuem maior concentração de compostos fenólicos e potencial antioxidante em relação às de tegumento amarelo (BAHRY et al., 2015; BURSAĆ et al., 2017; KUMAR et al., 2010; MALENCIC; CVEJIC; MILADINOVIC, 2012; SLAVIN; KENWORTHY; YU, 2009). Segundo Xu e Chang (2008) a maior parte dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante são encontradas no tegumento das sementes pretas, sendo que este possui aproximadamente 73% dos compostos fenólicos totais, 86% dos flavonoides, 80% dos taninos condensados e 100% das antocianinas em relação ao teor total presente nas sementes inteiras.

Todas as características citadas anteriormente podem afetar o potencial de armazenamento das sementes, contudo, ainda não existem estudos conclusivos a cerca disso.

2.4.3.1.3 Isoflavona

A semente de soja é considerada uma das principais fontes de isoflavonas (ALNOKARI; ALLAHAM; ALNOR, 2016; SILVA et al., 2012).

Doze formas de isoflavonas foram identificadas em soja, incluindo três agliconas (daidzeína, genisteína e gliciteína) e três formas conjugadas de cada aglicona (glicosídeos). As formas conjugadas são as glicosídicas (daidzina, genistina e glicitina), as acetilglicosídicas (acetildaidzina, acetilgenistina e acetilglicitina) e as malonilglicosídicas (malonildaidzina, malonilgenistina e malonilglicitina) (SUN et al., 2011). Dentre estas, Bursać et al. (2017) e Lee et al. (2010b) verificaram que as formas mais comuns em sementes de soja são as glicosídicas e as malonilglicosídicas.

O teor total de isoflavonas, bem como de seus perfis, são variáveis entre as cultivares de soja (ÁVILA et al., 2011; CHO et al., 2013; MUJIC et al., 2011).

Park et al. (2012) e Silva et al. (2012) ao estudarem diferentes cultivares de soja, reportaram valores totais de isoflavonas que variaram de 140,5 a 300,8 mg 100 g de farinha⁻¹ e de 165,26 a 336,66 mg 100 g de farinha⁻¹, respectivamente.

As isoflavonas possuem diversas funções biológicas, contudo em relação à qualidade de sementes de soja, a ação antioxidante é a que merece destaque. Neste sentido, Devi et al. (2009) e Mujic et al. (2011) verificaram que a atividade antioxidante em sementes de soja correlacionou-se positivamente com o total de isoflavonas.

Segundo Ávila et al. (2007) e Ávila e Albrecht (2010) a atividade antioxidante das isoflavonas pode ser considerada um mecanismo de garantia da qualidade das sementes, visto que a degradação da membrana celular pela ação de radicais livres é uma das mais discutidas e aceitas teorias de deterioração das sementes. Assim, a ação antioxidante da isoflavona pode ser benéfica à qualidade das sementes e a manutenção desta qualidade ao longo do armazenamento.

Ávila et al. (2007) ao estudarem a relação entre o teor total de isoflavonas e a qualidade fisiológica de sementes produzidas em dois ambientes de cultivo, constataram que apenas um dos ambientes resultou em correlação significativa e positiva entre o teor de isoflavona e os testes de germinação e primeira contagem de germinação.

Apesar do trabalho mencionado anteriormente, cabe ressaltar que na literatura existem diversas pesquisas que evidenciam a importância desse metabólito na planta, contudo os mesmos não são direcionados para a qualidade de sementes e tampouco para o processo de deterioração.

Com isso, denota-se a importância desse trabalho, pois ainda há muito a ser explorado sobre a relação das isoflavonas, bem como dos outros metabólitos da rota dos fenilpropanóides incluídos nesse estudo, com a qualidade e, principalmente, com a tolerância a deterioração das sementes ao longo do armazenamento.

REFERÊNCIAS

- ABATI, J.; BRZEZINSKI, C. R.; FOLONI, J. S. S.; ZUCARELI, C.; BASSOI, M. C.; HENNING, F. A. Seedling emergence and yield performance of wheat cultivars depending on seed vigor and sowing density. **Journal of Seed Science**, v. 39, n. 1, p. 58-65, 2017.
- ABRASEM – Associação Brasileira de Sementes e Mudanças. **Anuário 2016**. 2016. Disponível em: <http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2013/09/Anuario_ABRASEM_2016_SITE.pdf>. Acesso em: 23 jul. 2017.
- ALHAMDAN, A. M.; ALSADON, A. A.; KHALIL, S. O.; WAHB-ALLAH, M. A.; NAGAR, M. E. L.; AIBRAHIMN, A. Influence of storage conditions on seed quality and longevity of four vegetable crops. **American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science**, v. 11, p. 353-359, 2011.
- ALI, I. M.; NULIT, R.; IBRAHIM, M. H.; UDDIN, M. K. Deterioration of quality soybean seeds (*Glycine max* (L.) Merr. AGS 190) at harvest stages, seed moisture content and storage temperature in Malaysia. **International Journal of Biosciences**, v. 10, n. 5, p. 372-381, 2017.
- ALMEIDA, L. A.; KIIHLL, R. A. S.; MIRANDA, M. A. C.; CAMPELO, G. J. A. Melhoramento de soja para regiões de baixas latitudes. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-árido, 1999.
- ALNOKARI, S.; ALLAHAM, A.; ALNOR, A. S. Extraction and determination of isoflavones in soybean seeds. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 41, n. 1, p. 1-3, 2016.
- AMARAL, D. R.; DOBIS, F. S.; CARVALHO, T. C. Avaliação da qualidade física e fisiológica de sementes de soja durante o beneficiamento. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 11, n. 2, p. 43-52, 2018.
- AMODU, U. S.; AKU, B. O. Seed-borne diseases and Nigeria agriculture. **Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences**, v. 2, n. 3, p. 243-252, 2015.
- APROSOJA – Associação dos produtores de soja do Brasil. 2014a. **A história da soja**. Disponível em: <<http://aprosojabrasil.com.br/2014/sobre-a-soja/a-historia-da-soja>>. Acesso em: 11 jul. 2017.
- APROSOJA – Associação dos produtores de soja do Brasil. 2014b. **Uso da soja**. Disponível em: <<http://aprosojabrasil.com.br/2014/sobre-a-soja/uso-da-soja>>. Acesso em: 11 jul. 2017.

ASIEDU, E. A.; POWELL, A. A. Comparisons of storage potential of cultivar of cowpea (*Vigna unguiculata*) differing in seed coat pigmentation. **Seed Science and Technology**, v. 26, n. 1, p. 211-221, 1998.

ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. de L.; SCAPIM, A.; MANDARINO, J. M. G.; ALBRECHT, L. P.; VIDIGAL FILHO, P. S. Componentes do rendimento, teores de isoflavonas, proteínas, óleo e qualidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p. 111-127, 2007.

ÁVILA, M. R.; ALBRECHT, L. P. Isoflavonas e a qualidade de sementes de soja. **Informativo Abrates**, v. 20, n. 1, p. 15-29, 2010.

ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. de L.; ALBRECHT, L. P.; SCAPIM, C. A.; MANDARINO, J. M. G.; BAZO, G. L.; CABRAL, Y. C. F. Effect of storage period on isoflavone content and physiological quality of conventional and transgenic soybean seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 1, p. 149-161, 2011.

BAHRY, C. A. **Expressão relativa de genes, caracterização química e estrutural de tegumentos e desempenho de sementes de soja com características contrastantes**. 2014. 130 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

BAHRY, C. A.; ACUNHA, T. S.; FERNANDO, J. A.; CHAVES, F. C.; NARDINHO, M.; ZIMMER, P. D. Chemical composition and structural characterization of contrasting colors of soybean seed coats. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 1913-1926, 2015.

BAHRY, C. A.; PERBONI, A. T.; NARDINO, M.; ZIMMER, P. D. Physiological quality and imbibitions of soybean seeds with contrasting coats. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 125-133, 2017.

BALEŠEVIĆ-TUBIĆ, S.; MALENCIC, D.; TATIC, M.; MILADINOVIC, J. Influence of aging process on biochemical changes in sunflower seed. **Helia**, v. 28, n. 42, p. 107-114, 2005.

BARBOSA, C. Z. dos R.; SMIDERLE, O. J.; ALVES, J. M. A.; VILARINHO, A. A.; SEDIYAMA, T. Qualidade de sementes de soja BRS Tracajá, colhidas em Roraima em função do tamanho no armazenamento. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, p. 73-80, 2010a.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010b.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.

BEGUM, M. A. J.; VENUDEVAN, B.; JAYANTHI, M. Storage fungi in groundnut and associated seed quality deterioration - a review. **Plant Pathology Journal**, v. 12, n. 3, p. 127-134, 2013.

BELLALOU, N.; SMITH, J. R.; MENGISTU, A. Seed nutrition and quality, seed coat boron and lignin are influenced by delayed harvest in exotically-derived soybean breeding lines under high heat. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1563, p. 01-16, 2017.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3. ed. Springer, 2013. 407 p.

BHATTACHARJEE, S. The language of reactive oxygen species signaling in plants. **Journal of Botany**, p. 1-22, 2012.

BOERJAN, W.; RALPH, J.; BAUCHER, M. Lignin biosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 54, p. 519-546, 2003.

BORTOLETTO, W. V.; MACEDO, W. R.; OLIVEIRA, T. C.; SOUZA, D. S. Agrochemicals and storage times on soybean seed vigor. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 2, p. 129-132, 2017.

BRACCINI, A. de L.; REIS, M. S.; MOREIRA, M. A.; SEDIYAMA, C. S.; SCAPIM, C. A. Biochemical changes associated to soybean seeds osmoconditioning during storage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 2, p. 433-447, 2000.

BRZEZINSKI, C. R.; ABATI, J.; HENNING, F. A.; HENNING, A. A.; FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; WERNER, F.; ZUCARELI, C. Volumes de calda utilizados no tratamento industrial sobre a qualidade fisiológica de sementes de soja armazenadas em diferentes ambientes e períodos. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 2015, Foz do Iguaçu. **Anais...** Londrina: ABRATES, 2015.

BURSAĆ, M.; KRSTONOŠIĆ, M. A.; MILADINOVIĆ, J.; MALENČIĆ, D.; GVOZDENOVIĆ, L.; CVEJIĆ, J. H. Isoflavone composition, total phenolic content and antioxidant capacity of soybeans with colored seed coat. **Natural product communications**, v. 12, n. 4, p. 527-532, 2017.

CÂMARA, G. M. S. **Introdução ao agronegócio soja**. 2017. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/departamentos/lpv/sites/default/files/LPV%200584%202015%20-%20Soja%20Apostila%20Agronegocio.pdf>>. Acesso em: 11 jul. 2017.

CAMILO, G. L.; CASTELLANOS, C. I. S.; SUÑÉ, A. dos S.; ALMEIDA, A. da S.; SOARES, V. N.; TUNES, L. V. M. Qualidade fisiológica de sementes de soja durante o armazenamento após revestimento com agroquímicos. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 2, p. 436-446, 2017.

CAMPELO, G. J. A.; KIIHL, R. A. S.; ALMEIDA, L. A. Características agronômicas e morfológicas das cultivares de soja desenvolvidas para as regiões de baixas latitudes. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-árido, 1999.

CAPELETI, I.; BONINI, E. A.; FERRARESE, M. L. L.; TEIXEIRA, A. C. N.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FERRARESE-FILHO, O. Lignin content and peroxidase activity in soybean seed coat susceptible and resistant to mechanical damage. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 27, n. 1, p. 103-108, 2005.

CARBONELL, S. A. M.; KRZYZANOWSKI, F. C. The pendulum test for screening soybean genotypes for seeds resistant to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, v. 23, n. 2, p. 331-339, 1995.

CARDOSO, P. C.; BAUDET, L.; PESKE, S. T.; LUCCA FILHO, O. A. Armazenamento em sistema a frio de sementes de soja tratadas com fungicida. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 1, p. 15-23, 2004.

CARDOSO, R. B.; BINOTI, F. F. da S.; CARDOSO, E. D. Potencial fisiológico de sementes de crambe em função das embalagens e armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 272-278, 2012.

CARRÃO-PANIZZI, M. C. C.; PIPOLO, A. E. **Cultivares de soja especiais para a alimentação humana**. Londrina: CNPSo. 2007. 6 p. Folder.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.

CARVALHO, E. R.; MAVAIEIE, D. P. R.; OLIVEIRA, J. A.; CARVALHO, M. V.; VIEIRA, A. R. Alterações isoenzimáticas em sementes de cultivares de soja em diferentes condições de armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 12, p. 967-976, 2014.

CASTRO, E. M.; OLIVEIRA, J. A.; LIMA, A. E.; SANTOS, H. O.; BARBOSA, J. I. L. Physiological quality of soybean seeds produced under artificial rain in the pre-harvesting period. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 1, p. 14-21, 2016.

CHO, K. M.; HA, T. J.; LEE, Y. B.; SEO, W. D.; KIM, J. Y.; RYU, H. W.; JEONG, S. H.; KANG, Y. M.; LEE, J. H. Soluble phenolics and antioxidant properties of soybean (*Glycine max* L.) cultivars with varying seed coat colours. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 1065-1076, 2013.

CHUNG, G.; SINGH, R. J. Broadening the genetic base of soybean: a multidisciplinary approach. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 27, n. 5, p. 295-341, 2008.

CIB – Conselho de informações sobre biotecnologia. **Top 5: área cultivada com transgênicos no mundo**. 2018. Disponível em: <<https://cib.org.br/top-5-area-cultivada-com-transgenicos-no-mundo>>. Acesso em: 11 set. 2018.

CISOJA – Centro de inteligência da soja. **Histórico**. 2015. Disponível em: <<http://www.cisoja.com.br/index.php?p=historico>>. Acesso em: 11 set. 2017.

COLVILLE, L.; SÁEZ, C. M. B.; LEWIS, G. P.; KRANNER, I. The distribution of glutathione and homoglutathione in leaf, root and seed tissue of 73 species across the three sub-families of the Leguminosae. **Phytochemistry**, v. 115, p. 175-183, 2015.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira – Grãos, décimo primeiro levantamento**. 2018. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

COPELAND, L. O.; MCDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. 4 ed. New York: Chapman & Hall, 2001. 467 p.

DALL'AGNOL, A.; LAZAROTTO, J. J.; HIRAKURI, M. H. Desenvolvimento, mercado e rentabilidade da soja brasileira. In: **Circular técnica 74**. p. 19. 2010.

DANTAS, Í. B.; OLIVEIRA, J. A.; SANTOS, H. O.; VON PINHO, E. V. R.; ROSA, S. D. V. F. Influence of lignin content in soybean seed coat on the incidence of the storage fungus *Aspergillus flavus*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 541-548, 2012.

D'AUTRÉAUX, B.; TOLEDANO, M. B. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 8, p. 813-824, 2007.

DAVAR, R.; DARVISHZADEH, R.; MAJD, A. Changes in antioxidant systems in sunflower partial resistant and susceptible lines as affected by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biologia**, v. 68, p. 821-829, 2013.

DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, v. 1, n. 2, p. 427-52, 1973.

DEMITO, A.; AFONSO, A. D. L. Qualidade das sementes de soja resfriadas artificialmente. **Engenharia na Agricultura**, v. 17, p. 7-14, 2009.

DEVI, M. K. A.; GONDI, M.; SAKTHIVELU, G.; GIRIDHAR, P.; RAJASEKARAN, T.; RAVISHANKAR, G. A. Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isoflavone content and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 114, p. 771-776, 2009.

DHINGRA, O. D.; SILVA JUNIOR, G. J.; RODRIGUES, F. A. Patologia de Sementes. In: SEDYAMA, T. **Tecnologias de produção de sementes de soja**. Londrina: Mecenaz, 2013, p. 135-352.

DINAKAR, C.; DJILIANOV, D.; BARTELS, D. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, v. 182, p. 29-41, 2012.

DOMIT, L. A.; PÍPOLO, A. E.; MIRANDA, L. C.; GUIMARÃES, M. F. Transferência de tecnologia para cultivares de soja desenvolvidas pela Embrapa Soja para o Paraná. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 01-09, 2007.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil: A soja no Brasil**. 2004. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>>. Acesso em: 10 ago. 2017.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **História da soja**. 2017. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/en/soja/cultivos/soja1/historia>> Acesso em: 10 jul. 2017.

EMILIANI, G.; FONDI, M.; FANI, R.; GRIBALDO, S. A horizontal gene transfer at the origin of phenylpropanoid metabolism: a key adaptation of plants to land. **Biology Direct**, v. 4, n. 7, p. 01-12, 2009.

FANAN, S.; MEDINA, P. F.; CAMARGO, M. P.; RAMOS, N. P. Influência da colheita e do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 150-159, 2009.

FERRARESI, L. D.; VILLELA, F. A.; AUMONDE, T. Z. Desempenho fisiológico e composição química de sementes de soja. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 1, p. 14-18, 2014.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.

FINCH-SAVAGE; W. E.; BASSEL, G. W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 01-25, 2015.

FORTI, V. A.; CICERO, S. M.; PINTO, T. L. F. Avaliação da evolução de danos por 'umidade' e redução do vigor em sementes de soja, cultivar TMG 113-RR, durante o armazenamento, utilizando imagens de raio X e testes de potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, p. 123-133, 2010.

FRANÇA NETO, J. de B.; HENNING, A. A. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1984. 39 p. (Circular Técnica, 9).

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; WEST, S. H.; HENNING, A. A.; COSTA, N. P. Determinação do conteúdo de lignina nos tegumentos de sementes de soja com tegumento preto e amarelo. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa soja, 1999. 247 p. (Embrapa Soja. Documentos, 134).

FRANÇA NETO, J. de B.; HENNING, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. Tecnologia de produção de sementes. In: **A cultura da soja no Brasil**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 2000.

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; PÁDUA, G. P.; COSTA, N. P.; HENNING, A. A. **Tecnologia da produção de sementes de soja de alta qualidade**. Londrina: EMBRAPA, CNPSo, 12 p., 2007. (Circular técnica, 40).

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. A importância do uso de sementes de soja de alta qualidade. **Informativo Abrates**, v. 20, n. 1, p. 37-38, 2010.

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; PÁDUA, G. P.; LORINI, I.; HENNING, F. A. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 83 p. (Documentos 380).

FRANÇA NETO, J. de B. Características fisiológicas da semente: germinação, vigor, viabilidade, danos mecânicos tetrazólio, deterioração por umidade tetrazólio e dano por percevejo tetrazólio. In: **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2014/15**. HENNING, A. A.; CORRÊA, D. S.; HENNING, F. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LORINI, I.; FRANÇA NETO, J. de B.; MANDARINO, J. M. G.; OLIVEIRA, M. A.; HIRAKURI, M. H.; LEITE, R. S.; BENASSI, V. T. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 190 p. (Documentos 378).

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; PÁDUA, G. P. de. Características fisiológicas da semente: vigor, viabilidade, germinação, danos mecânicos tetrazólio, deterioração por umidade tetrazólio, dano por percevejo tetrazólio e sementes verdes. In: **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2015/16**. HENNING, A. A.; HENNING, F. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; PÁDUA, G. P. de; LORINI, I.; FRANÇA NETO, J. de B.; MANDARINO, J. M. G.; OLIVEIRA, M. A.; HIRAKURI, M. H.; LEITE, R. S.; BENASSI, V. T. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 229 p. (Documentos 393).

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909-930, 2010.

GOLDFARB, M.; QUEIROGA, V. de P. Considerações sobre o armazenamento de sementes. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 7, n. 3, p. 71-74, 2013.

GRIS, C. F.; VON PINHO, E. V. de R.; ANDRADE, T.; BALDONI, A.; CARVALHO, M. L. de M. Qualidade fisiológica e teor de lignina no tegumento de sementes de soja convencional e transgênica RR submetidas a diferentes épocas de colheita. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 374-381, 2010.

HAJIBOLAND, R. Reactive oxygen species and photosynthesis. In: AHMAD, P. **Oxidative damage to plants, antioxidant and networks and signaling**. 1. ed. San Diego: Elsevier, 2014. p. 1-63.

HENNING, A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; YORINORI, J. T.; COSTAMILAN, L. M.; FERREIRA, L. P.; MEYER, M. C. SOARES, R. M.; DIAS, W. P. **Manual de identificação de doenças de soja**. 5 ed. 2014. (Documentos 256).

HENNING, A. A. **Guia prático para identificação de fungos mais frequentes em sementes de soja**. Embrapa Soja: Londrina, 2015, 33 p.

HENNING, A. A. **Soja**: Aprosmat orientará sobre carregamento e armazenagem de sementes. 2016b. Disponível em: <<http://www.gestaonocampo.com.br/biblioteca/soja-aprosmat-orientara-sobre-carregamento-e-armazenagem-de-sementes/>>. Acesso em: 21 jul 2017.

HENNING, F. A. **Mapeamento de caracteres do tegumento da semente de soja e análise in silico dos marcadores microssatélites**. 2007. 58 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

HENNING, F. A.; MERTZ, L. M.; JACOB JUNIOR, E. A.; MACHADO, R. D.; FISS, G.; ZIMMER, P. D. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. **Bragantia**, v. 69, n. 3, p. 727-734, 2010.

HENNING, F. A. Avaliação da mistura genética das amostras de sementes. In: **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2014/15**. HENNING, A. A.; CORRÊA, D. S.; HENNING, F. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LORINI, I.; FRANÇA NETO, J. de B.; MANDARINO, J. M. G.; OLIVEIRA, M. A.; HIRAKURI, M. H.; LEITE, R. S.; BENASSI, V. T. Londrina: Embrapa Soja, 2016a. 190 p. (Documentos 378).

HENNING, F. A. Avaliação da mistura genética das amostras de sementes. In: **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2015/16**. HENNING, A. A.; HENNING, F. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; PÁDUA, G. P. de; LORINI, I.; FRANÇA NETO, J. de B.; MANDARINO, J. M. G.; OLIVEIRA, M. A.; HIRAKURI, M. H.; LEITE, R. S.; BENASSI, V. T. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 229 p. (Documentos 393).

HORN, D. **A importância do armazenamento adequado de sementes de soja para manter altos níveis de germinação e vigor**. 2017. Disponível em:

<<http://www.pioneersementes.com.br/blog/148/a-importancia-do-armazenamento-adequado-de-sementes-de-soja-para-manter-altos-niveis-de-germinacao-e-vigor>>. Acesso em: 21 jul 2017.

HOSAMANI, J.; DADLANI, M.; SANTHA, I. M.; KUMAR, M. B. A.; JACOB, S. R. Biochemical phenotyping of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] genotypes to establish the role of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in seed longevity. **Agricultural Research**, v. 2, n. 2, p. 119-126, 2013.

HUTH, C.; MERTZ-HENNING, L. M.; LOPES, S. J.; TABALDI, L. A.; ROSSATO, L. V.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, F. A. Susceptibility to weathering damage and oxidative stress on soybean seeds with different lignin contents in the seed coat. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 4, p. 296-304, 2016.

JARDINE, J. G.; BARROS, T. D. **Soja**. 2015. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fbl23vmz02wx5eo0sawqe3vtdl7vi.html>>. Acesso em: 21 set. 2015.

JYOTI; MALIK, C. P. Seed deterioration: a review. **International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Reserch**, v. 2, n. 3, 2013.

KAPOOR, N.; ARYA, A.; SIDDIQUI, M. A.; KUMAR, H.; AMIR, A. Physiology and biochemical changes during seed deterioration in aged seeds of rice (*Oryza sativa* L.). **America Journal of Plant Physiology**, v. 6, n. 1, p. 28-35, 2011.

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T. Vigor de sementes e competição intra-específica em soja. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1248-1256, 2005.

KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; FRANÇA NETO, J. de B.; LORINI, I.; HENNING, F. A.; GAZZIERO, D. L. P. **Tecnologias para produção de sementes de soja**. 1 ed. Londrina: Embrapa Soja, 2015, 31 p.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. de B.; HENNING, A. A. **A alta qualidade da semente de soja**: fator importante para a produção da cultura. Circular técnica 136, p. 1-24, 2018.

KUMAR, V.; RANI, A.; DIXIT, A. K.; PRATAP, D.; BHATNAGAR, D. A comparative assessment of total phenolic content, ferric reducing-anti-oxidative power, free radical-scavenging activity, vitamin C and isoflavones content in soybean with varying seed coat colour. **Food Research International**, v. 43, p. 323-328, 2010.

KURKIN, V. A. Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural analysis, and biological activity. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 39, n. 2, p. 123-153. 2003.

KUCHLAN, M. K.; DADLANI, M.; SAMUEL, D. V. K. Seed coat properties and longevity of soybean seeds. **Journal of New Seeds**, v.11, n. 3, p. 239-249, 2010.

KUCHLAN, M. K.; KUCHLAN, P.; ONKAR, M.; RAMESH, A.; HUSAIN, S. M. Influence of seed coat compactness around cotyledons, protein and mineral composition on mechanical strength of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] seed coat. **Legume Research**, v. 41, n. 2, p. 246-252, 2018.

LABBÉ, L. M. B.; VILLELA, F. A. Armazenamento de Sementes. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3 ed. Pelotas, 2012. 573 p.

LEE, J. H.; KANG, N. S.; SHIN, S. O.; SHIN, S. H.; LIM, S. G.; SUH, D. Y.; BAEK, I. Y.; PARK, K. Y.; HA, T. J. Characterisation of anthocyanins in the black soybean (*Glycine max* L.) by HPLC-DAD-ESI/MS analysis. **Food Chemistry**, v. 112, p. 226-231, 2009.

LEE, Y. P.; BAEK, K. H.; LEE, H. S.; KWAK, S. S.; BANG, J. W. B.; KWON, S. Y. Tobacco seeds simultaneously over-expressing Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase display enhanced seed longevity and germination rates under stress conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 9, p. 2499-2506, 2010a.

LEE, S. J.; SEGUIN, P.; KIM, J. J.; MOON, H. I.; RO, H. M.; KIM, E. H.; SEO, S. H.; KANG, E. Y.; AHN, J. K.; CHUNG, I. M. Isoflavones in Korean soybeans differing in seed coat and cotyledon color. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 160-165, 2010b.

LEHNER, A.; MAMADOU, N.; POELS, P.; CÔME, D.; BAILLY, C.; CORBINEAU, F. Changes in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during ageing in wheat grains. **Journal of Cereal Science**, v. 47, n. 3, p. 555-565, 2008.

LEUNG, D. W. M. Studies of catalase in plants under abiotic stress. In: GUPTA, D. K.; PALMA, J. M.; CORPAS, F. J. **Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants**. Springer, 2018. p. 27-40.

LI, X.; YANG, Y.; YAO, J.; CHEN, G.; LI, X.; ZHANG, Q.; WU, C. FLEXIBLE CULM 1 encoding a cinnamyl-alcohol dehydrogenase controls culm mechanical strength in rice. **Plant Molecular Biology**, v. 69, p. 685-697, 2009.

LIMA, J. J. P.; BUITINK, J.; LALANNE, D.; ROSSI, R. F.; PELLETIER, S.; SILVA, E. A. A.; LEPRINCE, O. Molecular characterization of the acquisition of longevity during seed maturation in soybean. **Plos One**, v. 12, n. 7, p. 1-25, 2017.

LIU, J.; OSBOURN, A.; MA, P. MYB transcription factors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants. **Molecular Plant**, v. 8, p. 689-709, 2015.

LIU, J.; DENG, J.; YANG, C.; HUANG, N.; CHANG, X.; ZHANG, J.; YANG, F.; LIU, W.; WANG, X.; YONG, T.; DU, J.; SHU, K.; YANG, W. Fungal diversity in field mold-damaged soybean fruits and pathogenicity identification based on high-throughput rDNA sequencing. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. 779, p. 1-11, 2017.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. de B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. **Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas**. Brasília: Embrapa, 2015, 81 p.

LORINI, I.; HENNING, F. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; MONICO, N. A.; ABATI, J. Preferência alimentar das pragas *Rhizopertha dominica*, *Sitophilus oryzae* e *Lasioderma serricorne*, por diferentes genótipos de soja. In: VII CONFERÊNCIA BRASILEIRA DE PÓS-COLHEITA, 2018, Londrina. **Anais...Londrina: ABRAPOS**, 2018, p. 624-629.

LUCCA FILHO, O. A. Importância da sanidade na produção de sementes de alta qualidade. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 7, n.1, p. 113-124, 1985.

LUDWIG, M. P. **Princípios da pós-colheita de grãos e sementes**. Ibirubá: IFRS Campus Ibirubá, 2017, 191 p.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138 p.

MALENCIC, D.; CVEJIC, J.; MILADINOVIC, J. Polyphenol content and antioxidant properties of colored soybean seeds from Central Europe. **Journal of Medicinal Food**, v. 15, n. 1, p. 89-95, 2012.

MALLICK, N.; MOHN, F.H. Reactive oxygen species: response to alga cells. **Journal of Seed Technology**, v. 157, n. 2, p. 183-193, 2000.

MAMBRIN, R. B.; RIBEIRO, N. D.; MERTZ-HENNING, L. M.; HENNING, F. A.; BARKET, K. A. Seleção de linhagens de feijão com base no padrão e na qualidade de sementes. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 3, p. 147-156, 2015.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2017. **Soja representa quase 50% das exportações brasileiras do agronegócio em maio**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/soja-representa-quase-50-das-exportacoes-brasileiras-do-agronegocio-em-maio>>. Acesso em: 11 jul. 2017.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Registro Nacional de Cultivares – RNC. Ministério da Agricultura. **Cultivar Web**: Gerenciamento de informações. 2018. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php>. Acesso em: 17 set. 2018.

MARCOS FILHO, J. Importância do potencial fisiológico da semente de soja. **Informativo Abrates**, v. 23, n. 1, p. 21-24, 2013.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015, 660 p.

MARYAM, D.; OSKOUIE, B. Study the effect of mechanical damage at processing on soybean seed germination and vigor. **Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 6, n. 7, p. 60-64, 2011.

MARWANTO, M.; MARLINDA, M. D. The relationship between seed coat lignin content and seed quality of soybeans during storage. **Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia**, v. 5, n. 1, p. 12-17, 2003.

MELO, R. W. de. **Parametrização de modelo para estimação da produtividade da soja nas regiões do Planalto Médio, das Missões e do Alto Vale do Uruguai, Rio Grande do Sul**. 2005. 196 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

MENEGHELLO, G. E; PESKE, S. T. A grandeza do negócio de sementes de soja no Brasil. **Seed News**, v. 15, n. 4, p. 24-30, 2013.

MENEGHELLO, G. E. Qualidade de sementes: umidade e temperatura. **Seed News**, n. 6, p. 1-3, 2014.

MENEZES, M.; VON PINHO, E. V. R.; JOSÉ, S. C. B. R.; BALDONI, A.; MENDES, F. F. Aspectos químicos e estruturais da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1716-1723, 2009.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; CRUZ, H. L.; MENEGHELLO, G. E.; FERRARI, C. S.; ZIMMER, P. D. Diferenças estruturais entre tegumentos de sementes de soja com permeabilidade contrastante. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 23-29, 2009.

MERTZ-HENNING, L. M.; NAGASHIMA, A. I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; BINNECK, E.; HENNING, F. A. Relative quantification of gene expression levels associated with lignin biosynthesis in soybean seed coat. **Seed Science and Technology**, v. 43, p. 445-455, 2015.

MILLER, S. S.; ZIN, Z.; SCHNELL, J. A.; ROMERO, M. C.; BROWN, D. C. W.; JOHNSON, D. A. Hourglass cell development in the soybean seed coat. **Annals of Botany**, v. 106, p. 235-242, 2010.

MISSÃO, M. R. Soja: origem, classificação, utilização e uma visão abrangente do mercado. **Revista de Ciências Empresariais**, v. 3, n. 1, p. 07-15, 2006.

MOHAMMADI, H.; SOLTANI, A.; SADEGHIPOUR, H. R.; ZEINALI, E. Effect of seed aging on subsequent seed reserve utilization and seedling growth in soybean. **Internacional Journal of Plant Production**, v. 5, n. 1, p. 65-70, 2011.

MOISE, J. A.; HAN, S.; GUDYNAIT-SAVITCH, L.; JOHNSON, D. A.; MIKI, B. L. A. Seed coats: structure, development, composition, and biotechnology. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v. 41, p. 620-644, 2005.

MOREANO, T. B.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. de B.; MARQUES, O. J. Changes in the effects of weathering and mechanical damage on soybean seed during storage. **Seed Science and Technology**, v. 39, n. 3, p. 604-611, 2011.

MUJIĆ, I.; ŠERTOVIĆ, E.; JOKIĆ, S.; SARIĆ, Z.; ALIBABIĆ, V.; VIDOVIĆ, S.; ŽIVKOVIĆ, J. Isoflavone content and antioxidant properties of soybean seeds. **Croatian Journal of Food Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 16-20, 2011.

NEVES, J. M. G.; OLIVEIRA, J. A.; SILVA, H. P.; REIS, R. G. E.; ZUCHI, J.; VIEIRA, A. R. Quality of soybean seeds with high mechanical damage index after processing

and storage. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 11, p. 1025-1030, 2016.

PARK, Y. K.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; MASCARENHAS, H. A. A.; SCAMPARINI, A. R. P. Conversão de malonil- β -glicosil isoflavonas em isoflavonas glicosiladas presentes em alguns cultivares de soja brasileira. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 130-135, 2012.

PESKE, S. M.; BARROS, A. C. S. A. Produção de Sementes. In: PESKE, S. T.; ROSENTHAL, M. D. A.; ROTA, G. R. M. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 1 ed. Pelotas, 2003. 414 p.

PESKE, S. M.; BARROS, A. C. S. A.; SCHUCH, L. O. B. Produção de Sementes. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3 ed. Pelotas, 2012. 573 p.

PESKE, S. T.; BAUDET, L. M.; VILLELA, F. A. Tecnologia de pós-colheita para sementes. In: SEDYAMA, T. **Tecnologias de produção de sementes de soja**, Londrina: Mecenias, 2013, p. 327-352.

PESKE, S. T. O mercado de sementes no Brasil. **Seed News**, v. 20, n. 3, 2016.

PESKE, S. T. Investindo em empresas de sementes. **Seed News**, n. 2, 2018.

PINTO, T. L. F.; MONDO, V. H. V.; GOMES-JÚNIOR, F. G.; CICERO, S. M. Análise de imagens na avaliação de danos mecânicos em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 3, p. 310-316, 2012.

PITZSCHKE, A.; FORZANI, C.; HIRT, H. Reactive Oxygen Species Signaling in Plants. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 8, n. 9, p. 1757-1764, 2006.

QUTOB, D.; MA, F.; PETERSON, C. A.; BERNARDS, M. A.; GIJZEN, M. Structural and permeability properties of the soybean seed coat. **Botany**, v. 86, p. 219-227, 2008.

RADCHUK, V.; BORISJUK, L. Physical, metabolic and developmental functions of the seed coat. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 510, 2014.

RAO, N. K.; DULLOO, M. E.; ENGELS, J. M. M. A review of factors that influence the production of quality seed for long-term conservation in genebanks. **Genetic Resources and Crop Evolution**, p. 1-14, 2016.

RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ, J. H.; PELUZO, M. C. G.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L. P.; QUEIROZ, M. E. L. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience Journal**, v. 21, n. 3, p. 133-149, 2005.

ROCK, C. D. Phenylpropanoid metabolism. **Encyclopedia of Life Sciences**, p. 1-18, 2017.

ROSA, D. P.; NOBRE, D. A. C.; OLIVEIRA, D. S.; SILVA, F. C. S.; BEZERRA, A. R. G.; SILVA, A. F.; SEDIYAMA, T. Genetic diversity in soybean seed quality under different storage conditions. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 1, p.57-72, 2017.

SAGATA, E.; HAMAWAKI, O. T.; SOUSA, L. B.; HAMAWAKI, C. D. L. Desempenho agrônômico das linhagens de soja desenvolvidos pelo programa de melhoramento da UFU. **Bioscience Journal**, v. 25, n. 6, p. 112-120, 2009.

SAISANTHOSH, K.; SUMALATHA, G. M.; SHUBA, A. C.; KOMALA, N. T.; PATIL, N. K. B. Role of enzymatic antioxidants defense system in seeds. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, p. 584-594, 2018.

SANTOS, E. L.; PÓLA, J. N.; BARROS, A. S. R.; PRETE, C. E. C. Qualidade fisiológica e composição química das sementes de soja com variação na cor do tegumento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 20-26, 2007.

SCHEEREN, B. R.; PESKE, S. T.; SCHUCH, L. O. B.; BARROS, A. C. A. Qualidade fisiológica e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 35-41, 2010.

SCHUCH, L. O. B.; KOLCHINSKI, E. M.; FINATTO, J. A. Qualidade fisiológica da semente e desempenho de plantas isoladas em soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 144-149, 2009.

SCHWEMBER, A.; BRADFORD, K. J. Quantitative trait loci associated with longevity of lettuce seeds under conventional and controlled deterioration storage conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 15, p. 4423-4436, 2010.

SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. C.; BARROS, H. B. Origem, evolução e importância econômica. In: SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Mecnas, 2009, p. 01-05.

SELVI, D. T.; SARASWATHY, S. Seed viability, seed deterioration and seed quality improvements in stored onion seeds: a review. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 93, n. 1, p.1-7, 2017.

SERKEDJIEVA, J. Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. In: GUPTA, S. D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2011. Chap.13, p. 275-293.

SEYYEDI, S. M.; KHAJED-HOSSEINI, M.; MOGHADDAMA, P. R.; SHAHANDEHB, H. Effects of phosphorus and seed priming on seed vigor, fatty acids composition and heterotrophic seedling growth of black seed (*Nigella sativa* L.) grown in a calcareous soil. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 939-949, 2015.

SHABAN, M. Review on physiological aspects of seed deterioration. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 6, n. 11, p. 627-631, 2013.

SHAO, S.; MEYER, C. J.; MA, F.; PETERSON, C. A.; BERNARDS, M. A. The outermost cuticle of soybean seeds: chemical composition and function during imbibition. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 5, p. 1071-1082, 2007.

SHARMA, S.; KAUR, A.; BANSAL, A.; GILL, B. S. Positional effects on soybean seed composition during storage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 353-359, 2013.

SHELAR, V. R. Role of mechanical damage in deterioration of soybean seed quality during storage - a review. **Agricultural Reviews**, v. 29, n. 3, p. 177-184, 2008.

SHELAR, V. R.; SHAIKH, R. S.; NIKAM, A. S. Soybean seed quality during storage: a review. **Agricultural Reviews**, v. 29, n. 2, p. 125-131, 2008.

SILVA, C.E.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G.; LEITE, R. S.; MÔNACO, A. P. A. Teores de isoflavonas em grãos inteiros e nos componentes dos grãos de diferentes cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 150-156, 2012.

SIMIC, B.; SUDARIC, A.; LIOVIC, I.; KALINOVIC, I.; ROZMAN, V.; COSIC, J. Influence of storage condition on seed quality of maize, soybean and sunflower. In: **International Working Conference on Stored Product Protection**, p. 59-63, 2007.

SINGH, J.; PAROHA, S.; MISHRA, R. P. Factors affecting oilseed quality during storage with special reference to soybean (*Glycine max*) and niger (*Guizotia abyssinica*) seeds. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 10, p. 2215-2226, 2017.

SISMAN, C. Quality losses in temporary sunflower stores and influences of storage conditions on quality losses during storage. **Journal of Central European Agriculture**, v. 6, p. 143-150, 2005.

SLAVIN, M.; KENWORTHY, W.; YU, L. L. Antioxidant properties, phytochemical composition, and antiproliferative activity of Maryland-grown soybeans with colored seed coats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 23, p. 11174-11185, 2009.

SMANIOTTO, T. A. de S.; RESENDE, O.; MARÇAL, K. A. F.; OLIVEIRA, D. E. C.; SIMON, G. A. Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n. 4, p. 446-453, 2014.

SMÝKAL; P.; VERNOUD, V.; BLAIR, M. W.; SOUKUP, A.; THOMPSON, R. D. The role of the testa during development and in establishment of dormancy of the legume seed. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 351, p. 1-19, 2014.

SOUZA, F. H. D.; MARCOS FILHO, J. The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n.4. p. 365-375, 2001.

SUN, J.; SUN; B.; HAN, F.; YAN, S.; YANG, H.; AKIO, K. Rapid HPLC method for determination of 12 isoflavone components in soybean seeds. **Agricultural Sciences in China**, v. 10, n. 1, p. 70-77, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Arthmed, 2013, 918 p.

TALAMINI, V.; ALMEIDA, N. A.; LIMA, N. R. S.; SILVA, A. M. F.; CARVALHO, H. W. L. da.; SOUZA, R. C. de. **Avaliação da Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de girassol introduzidas para cultivo em Sergipe**. Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2011. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 67).

TAVARES, D. Q.; MIRANDA, M. A. C.; UMINO, C. Y.; DIAS, G. M. Características estruturais do tegumento de sementes de linhagens de soja permeável e impermeável. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 10, n. 1, p. 147-153, 1987.

TERASAWA, J. M.; PANOBIANCO, M.; POSSAMAI, E.; KOEHLER, H. S. Antecipação da colheita na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Bragantia**, v. 68, n. 3, p. 765-773, 2009.

TIMÓTEO, T. S.; MARCOS FILHO, J. Seed performance of different corn genotypes during storage. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 2, p.207-215, 2013.

TOLEDO, J. F. F.; ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A. S.; CARRÃO PANIZZI, M. C.; KASTER, M.; MIRANDA, L. C.; MENOSSO O. G. Genética y mejoramiento. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **El cultivo de la soja en los tropicos: mejoramiento y producción**. Roma: FAO, 1995. v. 27, p. 19-36.

TOLEDO, M. Z.; FONSECA, N. R.; CESAR, M. L.; SORATTO, R. P.; CAVARIANI, C.; CRUSCIOL, C. A. C. Qualidade fisiológica e armazenamento de sementes de feijão em função da aplicação tardia de nitrogênio em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 2, p. 124-133, 2009.

TRAWATHA, S. E.; TEKRONY, D. M.; HILDEBRAND, D. F. 1995. Relationship on soybean quality to fatty acid and C6-aldehyde levels during storage. **Crop Science**, v. 35, p. 1415-1422, 1995.

ULLMANN, R.; RESENDE, O.; CHAVES, T. H.; OLIVEIRA, D. E. C. de O.; COSTA, L. M. Qualidade fisiológica das sementes de sorgo sacarino submetidas à secagem em diferentes condições de ar. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 1, p. 64-69, 2015.

USDA – United States Department of Agriculture. **National Agricultural Statistics Service. Oilseeds: World Markets and Trade**, 2018. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/downloads>>. Acesso em: 11 set. 2018.

VALDÉS-LÓPEZ, O.; HERNÁNDEZ, G. Phenylpropanoids as master regulators: state of the art and perspectives in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 1-2, 2014.

VENDRAMIM, T. **Incidência de Danos Mecânicos e Qualidade Fisiológica de Sementes de Soja**. 2015. 32 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

VIDIGAL, D. S.; WILLEMS, L.; ARKEL, J. V.; DEKKERS, B. J. W.; HILHORST, H. W. M.; BENTSINK, L. Galactinol as marker for seed longevity. **Plant Science**, v. 246, p. 112-118, 2016.

VILLELA, F. A.; MENEZES, N. L. O potencial de armazenamento de cada semente. **Seed News**, n. 4, p. 1-2, 2009.

VOGT, T. Phenylpropanoid Biosynthesis. **Molecular Plant**, v. 3, n. 1, p. 2-20, 2010.

VU, D. T.; VELUSAMY, V.; PARK, E. Structure and chemical composition of wild soybean seed coat related to its permeability. **Pakistan Journal of Botany**, v. 46, n. 5, p. 1847-1857, 2014.

WANG, Y.; CHANTREAU, M.; SIBOUT, R.; HAWKINS, S. Plant cell wall lignification and monoglucol metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1-27, 2013.

WENG, J. K.; CHAPPLE, C. The origin and evolution of lignin biosynthesis. **New Phytologist**, v. 187, p. 273-285, 2010.

XU, B.; CHANG, S. K. C. Antioxidant capacity of seed coat, dehulled bean, and whole black soybeans in relation to their distributions of total phenolics, phenolic acids, anthocyanins, and isoflavones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8365-8373, 2008.

YOON, J.; CHOI, H.; AN, C. Roles of lignin biosynthesis and regulatory genes in plant development. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 57, n. 11, p. 902-912, 2015.

ZABALA; G.; VODKIN, L. Cloning of the pleiotropic t locus in soybean and two recessive alleles that differentially affect structure and expression of the encoded Flavonoid 3' Hydroxylase. **Genetics**, n. 163, p. 295-309, 2003.

ZABALA; G.; VODKIN, L. Methylation affects transposition and splicing of a large CACTA transposon from a myb transcription factor regulating anthocyanin synthase genes in soybean seed coats. **Plos One**, v. 9, n. 11, p. 01-20, 2014.

ZAMBIAZZI, E. V.; BRUZI, A. T.; CARVALHO, M. L. M.; SOARES, I. O.; ZUFFO, A. M. REZENDE, P. M.; MIRANDA, D. H. Potassium fertilization and physiological soybean seed quality. **Agricultural Sciences**, v. 5, n. 11, p. 984-991, 2014.

ZHAO, Q.; DIXON, R. A. Transcriptional networks for lignin biosynthesis: more complex than we thought? **Trends Plant Science**, v. 16, p. 227-233, 2011.

3 ARTIGO A – METABÓLITOS DA ROTA DOS FENILPROPANÓIDES E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE GENÓTIPOS DE SOJA NO ARMAZENAMENTO

3.1 RESUMO

A identificação e o entendimento da relação dos metabólitos da rota dos fenilpropanóides com a qualidade e a longevidade de sementes são necessários para subsidiar a seleção de cultivares com sementes de melhor potencial fisiológico e de armazenamento. Desta forma, o objetivo foi avaliar as alterações na qualidade fisiológica de sementes de cultivares de soja ao longo do armazenamento em dois ambientes e sua relação com metabólitos da rota dos fenilpropanóides. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 8 (períodos de armazenamento x cultivares), com quatro repetições. Foram utilizadas sementes de oito cultivares de soja com características contrastantes de teor de lignina, cor e presença de antocianina no tegumento e teor de isoflavona na semente, armazenadas durante seis meses em câmara fria (11 °C e 54% de UR) e em ambiente não controlado (média de 25 °C e 71% de UR). Periodicamente, a cada dois meses, as sementes foram avaliadas quanto à germinação, primeira contagem de germinação, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, comprimento total de plântulas e tetrazólio. A qualidade fisiológica das sementes é reduzida ao longo do armazenamento, com maiores taxas de decréscimo no ambiente não controlado. As cultivares apresentam comportamento diferenciado quanto a conservação do potencial fisiológico ao longo do armazenamento. Os metabólitos da rota dos fenilpropanóides estudados, especialmente a lignina, interferem no potencial de armazenamento das sementes. Cultivares com maiores teores de lignina apresentam maior potencial de armazenamento, principalmente em ambiente não controlado.

Palavras-chave: Cor do tegumento. Deterioração. *Glycine max* (L.) Merrill. Isoflavona. Lignina.

METABOLITES OF THE PHENYLPROPANOID PATHWAY AND PHYSIOLOGICAL QUALITY OF SOYBEAN GENOTYPES SEEDS IN THE STORAGE

3.2 ABSTRACT

The identification and understanding of the relation between the metabolites of the phenylpropanoid pathway and the seed quality and longevity are necessary to support the selection cultivars with seeds of better physiological potential and storage. In this way, the aim was to evaluate changes in the physiological quality of soybean seeds cultivars throughout storage in two environments and their relation with metabolites of the phenylpropanoid pathway. The experimental design was completely randomized, in a 4 x 8 factorial scheme (storage periods x cultivars), with four replications. Seeds of eight soybean cultivars with contrasting characteristics of lignin content, color and presence of anthocyanin in the seed coat and isoflavone content in the seed were stored for six months in a cold chamber (11 °C and 54% of RH) and uncontrolled environment (average of 25 °C and 71% of RH). Periodically, every two months, the seeds were evaluated for germination, first germination count, emergence of seedlings, emergence speed index, total length of seedlings and tetrazolium. The physiological quality of the seeds is reduced throughout the storage, with higher rates of decrease in the uncontrolled environment. The cultivars show a differentiated behavior regarding the conservation of the physiological potential along the storage. The metabolites of the phenylpropanoids pathway studied, especially the lignin, interfere in the seeds storage potential. Cultivars with higher lignin contents show greater storage potential, especially in an uncontrolled environment.

Key words: Coat color. Deterioration. *Glycine max* (L.) Merrill. Isoflavone. Lignin.

3.3 INTRODUÇÃO

A soja é uma das espécies mais cultivadas no mundo, sendo destinada, principalmente, para a alimentação humana e/ou animal e produção de biocombustíveis. Na safra 2017/18 a produção mundial foi de aproximadamente 337 milhões de toneladas, sendo que o Brasil se destaca como o segundo maior

produtor, com área cultivada de 35 milhões de hectares e produção de 118,9 milhões de toneladas (CONAB, 2018).

No entanto, produzir e disponibilizar sementes de soja com a qualidade desejada pelo consumidor de sementes e nos volumes demandados pela área cultivada em nosso país requer infraestrutura e pessoas capacitadas, envolvendo grandes investimentos (MENEGHELLO; PESKE, 2013). Atualmente a média nacional de taxa de utilização de sementes de soja está em torno de 71% e, para isso, o Brasil consome anualmente mais de dois milhões de toneladas de sementes (ABRASEM, 2016). O setor de sementes de soja movimenta mais de dois bilhões de reais por ano, envolvendo mais de 200000 pessoas e mais de 15 programas de melhoramento (MENEGHELLO; PESKE, 2013; PESKE, 2018).

Apesar do Brasil apresentar destaque em nível mundial em tecnologia de produção de sementes de soja, melhorias no sistema produtivo ainda são necessárias. Dentre os desafios, destacam-se o incremento na produção e utilização de sementes de elevada qualidade, seleção e desenvolvimento de cultivares visando à qualidade de sementes pelos programas de melhoramento genético, bem como o potencial de conservação dessa qualidade durante a armazenagem.

A qualidade de sementes é definida como a soma dos atributos de natureza genética, física, sanitária e fisiológica, que indicarão o seu potencial de desempenho, no armazenamento e no campo, em diferentes condições edafoclimáticas (MARCOS FILHO, 2015). A utilização de sementes de elevada qualidade é necessária para a obtenção de lavoura com estande adequado e com plântulas vigorosas, contribuindo assim, para o alcance de altos níveis de produtividade (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2015; FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI; HENNING, 2010).

Diversos fatores podem afetar a qualidade de sementes, bem como a conservação desta durante o armazenamento, por cerca de 6 a 8 meses, enquanto aguardam a época adequada para semeadura. No armazenamento, o processo de deterioração das sementes não pode ser impedido, entretanto a velocidade e a intensidade podem ser minimizadas dependendo das condições do ambiente de armazenamento e das características da semente (CARDOSO; BINOTI; CARDOSO, 2012; KAPOOR et al., 2011; VIDIGAL et al., 2016).

Com isso, alguns produtores estão investindo na climatização dos armazéns, através do controle de temperatura e umidade relativa do ar, visando à conservação da qualidade das sementes. Forti, Cícero e Pinto (2010) verificaram por meio de testes de germinação e vigor, que o ambiente de armazenamento não controlado propiciou maiores reduções no potencial fisiológico das sementes de soja, em relação às armazenadas em câmara seca (50% UR e 20 °C) e câmara fria (65% UR e 10 °C).

Além disso, diferenças na longevidade de sementes entre cultivares de soja têm sido frequentemente constatadas, gerando preocupação para o setor sementeiro e um desafio para os programas de melhoramento. Neste contexto, Carvalho et al. (2014) observaram que cultivares de soja apresentam diferentes níveis de tolerância a deterioração ao longo do armazenamento.

Assim, faz-se necessário a identificação e o entendimento de características físicas, químicas e fisiológicas das sementes relacionadas com a qualidade e a sua longevidade. Neste sentido, estudos direcionados a rota dos fenilpropanóides apresentam destaque, devido essa ser a via biossintética da formação de diversos compostos presentes nas sementes, incluindo a lignina, a antocianina e a isoflavona (VOGT, 2010).

De acordo com França Neto et al. (2000) o alto teor de lignina no tegumento confere as sementes menor permeabilidade, tornando-as menos suscetíveis a deterioração. Corroborando essa informação, Capeleti et al. (2005), Huth et al. (2016) e Marwanto e Marlinda (2003) observaram que sementes de soja com maior teor de lignina no tegumento apresentam maior resistência ao dano mecânico, tolerância à deterioração por umidade em pré-colheita e potencial de armazenamento, respectivamente.

Bahry et al. (2017) e Mertz et al. (2009) constataram que sementes com tegumento preto apresentam qualidade fisiológica superior as de tegumento amarelo. Ainda, Bahry et al. (2015) e Slavin, Kenworthy e Yu (2009) verificaram que sementes de soja com tegumento preto possuem maior concentração de compostos fenólicos e potencial antioxidante em relação as de tegumento amarelo. De acordo com os autores, esses resultados estão relacionados ao acúmulo de antocianinas nos genótipos com tegumento preto.

Outro composto presente nas sementes de soja são as isoflavonas, contudo estudos sobre a função destas sobre a qualidade e a longevidade de

sementes ainda são escassos. Entretanto, sabe-se que as isoflavonas apresentam importantes funções biológicas, como atividade antioxidante, as quais podem minimizar os efeitos da deterioração, em virtude da maior proteção das células que compõe as sementes da ação de radicais livres (ÁVILA et al., 2007; ÁVILA; ALBRECHT, 2010), podendo conferir as sementes maior potencial de armazenamento.

Com isso, verifica-se que alguns metabólitos da rota dos fenilpropanóides são condicionantes da qualidade de sementes, no entanto há necessidade de estudos exploratórios visando relacioná-los com o potencial de armazenamento das sementes. Desta forma, o objetivo foi avaliar as alterações na qualidade fisiológica de sementes de cultivares de soja ao longo do armazenamento em dois ambientes e sua relação com metabólitos da rota dos fenilpropanóides.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, no Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Embrapa Soja), nos laboratórios de Fisiologia e Tecnologia, Patologia e Química de Sementes e Grãos, e de Análises Físico-químicas e Cromatográficas, em Londrina – PR.

Foram utilizadas sementes de sete cultivares de soja: BRSMG 715A (dois lotes – L1 e L2), BRS 1001 IPRO, BRS 1003 IPRO, BRS 413 RR, BRS 284, BMX Valente RR e DM 6563 IPRO, com características contrastantes de teor de lignina, cor e presença de antocianina no tegumento e teor de isoflavona nas sementes (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 – Caracterização das cultivares utilizadas quanto aos metabólitos da via dos fenilpropanóides (cor, antocianina e teor de lignina no tegumento e teor de isoflavona em sementes).

ID ¹	Cultivar	Tegumento			Semente
		Cor	Antocianina	Teor de lignina (%)	Teor de isoflavona (mg 100 g de farinha ⁻¹)
A	BRSMG 715A – L1	Preto	+	14,07 b	312,10 b
B	BRSMG 715A – L2	Preto	+	14,38 a	332,78 a
C	BRS 1001 IPRO	Amarelo	-	3,99 e	222,09 d
D	BRS 1003 IPRO	Amarelo	-	3,80 f	237,69 c
E	BRS 413 RR	Amarelo	-	4,19 d	233,74 c
F	BRS 284	Amarelo	-	4,25 d	218,34 d
G	BMX Valente RR	Amarelo	-	3,29 g	173,89 e
H	DM 6563 IPRO	Amarelo	-	4,43 c	301,37 b

¹ ID: sigla utilizada para a identificação das cultivares. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação – teor de lignina: 1,71% e teor de isoflavona: 3,46%.

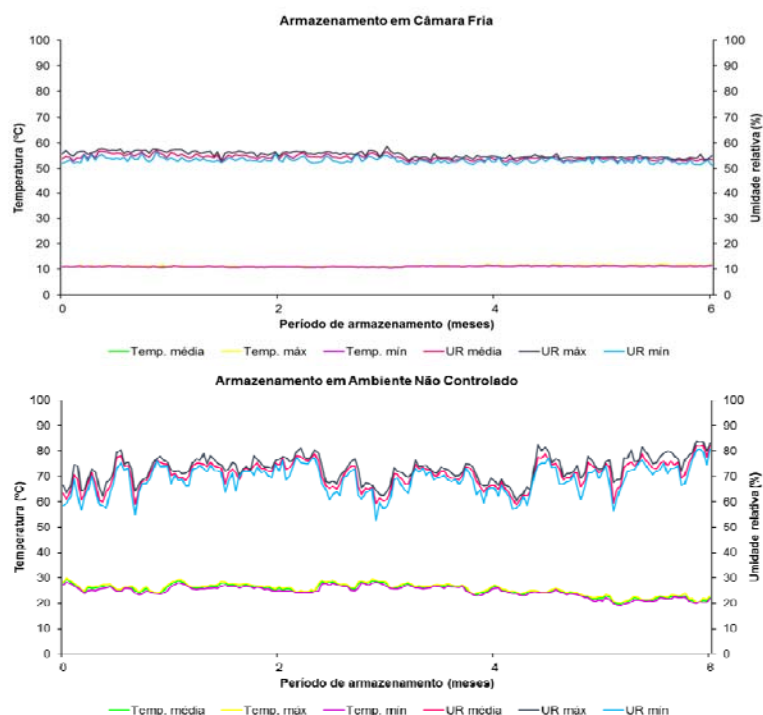
O teor de lignina no tegumento, utilizado para caracterizar as cultivares juntamente com a coloração do tegumento (presença de antocianina) e teor de isoflavona, foi determinado utilizando-se quatro repetições de 100 sementes, para cada tratamento, as quais foram inicialmente imersas em água por 12 horas. Após esse procedimento, os tegumentos das sementes foram removidos e levados para secagem em estufa a 105 °C por 24 horas. A massa da matéria seca obtida foi triturada e homogeneizada. Posteriormente pesou-se 300 mg de tegumento, as quais foram submetidas a centrifugações (3300 rpm por seis minutos) com diferentes soluções (fosfato de sódio e potássio; triton x-100; NaCl 1,0 M; água deionizada e acetona), para a obtenção da parede celular. Realizado todo esse processo os tubos com as amostras foram levados a um dessecador com vácuo, e, em seguida levados a estufa a 60 °C. Posterior à secagem das amostras, as mesmas foram maceradas e foi obtido o material livre de proteínas. Após, foi realizada a quantificação da lignina pelo método de brometo de acetila (MOREIRA-VILAR et al., 2014). Os resultados foram expressos em porcentagem.

O teor de isoflavona foi determinado utilizando-se quatro repetições. A extração das isoflavonas foi realizada de acordo com a metodologia de Carrão-Panizzi, Favoni e Kikuchi (2002), na qual as sementes foram trituradas e desengorduradas com hexano, com agitação constante por 16 horas. Em seguida, as amostras foram filtradas sob vácuo. Após, o material retido no filtro foi mantido em temperatura ambiente por 4 horas, para evaporação do hexano residual. Posteriormente, 100 mg de cada amostra triturada e desengordurada foram transferidas para tubos de ensaio de 10 mL. Em seguida, foram adicionados 4 mL de

solução de etanol 70%, contendo 0,1% de ácido acético. Os tubos contendo as amostras e a solução extratora foram homogeneizados a cada 15 minutos, durante 1 hora, em agitador do tipo “vortex”. Após a homogeneização, os tubos contendo as amostras foram ultrassonificados por 30 minutos e, posteriormente, transferiu-se o sobrenadante (1,5 mL do extrato) para tubos tipo eppendorfs. Esses foram centrifugados por 15 minutos, a 14000 rpm, a 4 °C. O sobrenadante foi filtrado através de membrana com poros de 0,45 µm, sendo utilizado 20 µL do extrato filtrado para injeção no cromatógrafo líquido de ultra pressão (UPLC). A quantificação das isoflavonas foi realizada de acordo com modificações na metodologia preconizada por Berhow (2002), em cromatógrafo líquido equipado com coluna de fase reversa do tipo ACQUITY UPLC BEH C18 1,7 µm, diâmetro 50 x 2,1 mm e auto-injetor de amostras. Para a separação das isoflavonas, adotou-se o sistema de gradiente linear binário, tendo-se como fases móveis: 1) metanol contendo 0,025% ácido trifluoroacético (TFA) (solvente A) e 2) água ultrapura contendo 0,025% de TFA (solvente B). A condição inicial do gradiente foi de 25% para o solvente A e 75% para o solvente B, que, aos 7 minutos, atingiu a concentração de 52% (solvente A) e 48% (solvente B) para, em seguida, subir a 100% (solvente A) e após retornar a 25% (solvente A) e 75% (solvente B), os quais permaneceram nessas condições até os 10 minutos e a finalização da corrida cromatográfica. Após a corrida, com os valores das áreas integradas de cada pico, massas iniciais, volume de extração e de injeção, e utilizando os fatores de calibração gerados na calibração, converteu-se as áreas em teores de isoflavona. Os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹ de farinha.

Para verificar os efeitos do armazenamento, as sementes foram acondicionadas em embalagens de papel e armazenadas durante um período de seis meses em dois ambientes: câmara fria (sob condições controladas de temperatura e umidade relativa do ar) e ambiente não controlado (sob condições naturais). Durante o experimento foram monitoradas a temperatura e umidade relativa (UR) do ar dos dois ambientes, com equipamento Data Logger modelo HT-500 (Figura 3.1).

Figura 3.1 – Temperatura máxima, média e mínima diária (°C) e umidade relativa do ar máxima, média e mínima diária (%) durante o período de armazenamento de sementes de soja em câmara fria e ambiente não controlado.



As avaliações foram realizadas em quatro períodos de armazenamento: zero (caracterização inicial), dois, quatro e seis meses, a fim de determinar as alterações na qualidade fisiológica das sementes, por meio dos seguintes testes:

Teste de germinação: realizado com duas subamostras de 50 sementes por repetição, totalizando 400 sementes por tratamento. As sementes foram distribuídas em rolos de papel germitest, umedecidos com água destilada, na quantidade de 2,5 vezes a massa seca do substrato. Posterior à montagem, os rolos foram acondicionados em germinador sob temperatura de 25 °C. Após oito dias foram realizadas as avaliações conforme as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Primeira contagem de germinação: realizada em conjunto com o teste de germinação. A avaliação foi efetuada cinco dias após a instalação do teste, contabilizando as plântulas normais, com resultados expressos em porcentagem (BRASIL, 2009).

Emergência de plântulas em areia: realizada com 400 sementes por tratamento, divididas em quatro repetições de 100 sementes. A semeadura foi realizada em bandejas plásticas (dimensões 0,45 x 0,30 x 0,10 m) contendo areia, em condições de casa de vegetação, com a umidade mantida com irrigações, de acordo com a necessidade das plântulas. A avaliação do número de plântulas normais emergidas foi realizada ao décimo segundo dia e, os resultados foram expressos em porcentagem.

Índice de velocidade de emergência: realizado em conjunto com o teste de emergência de plântulas em areia. As avaliações foram realizadas diariamente, a partir do início da emergência, registrando-se o número de plântulas emergidas até o décimo segundo dia após a semeadura. Para o cálculo do índice de velocidade de emergência (IVE) foi utilizada a equação sugerida por Popinigis (1977): $IVE = N_1/D_1 + N_2/D_2 + N_n/D_n$, na qual N_1 = número de plântulas emergidas no primeiro dia; N_n = número acumulado de plântulas emergidas; D_1 = primeiro dia de contagem; D_n : número de dias contados após a semeadura.

Comprimento total da plântula: foram utilizadas duas subamostras de 25 sementes por repetição, totalizando 200 sementes por tratamento. As sementes foram distribuídas no papel germitest umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa seca do substrato. Os rolos foram acondicionados no germinador por cinco dias a 25 °C. Após, foi determinado com auxílio de uma régua milimetrada o comprimento total das plântulas normais, e os resultados expressos em cm por plântula (NAKAGAWA, 1999).

Teste de tetrazólio: a avaliação foi conduzida com 50 sementes por repetição, pré-condicionadas em papel germitest umedecido com água destilada por um período de 16 horas, em germinador com temperatura constante de 25 °C. Passado este período, as sementes foram transferidas para copos plásticos, com volume de 50 mL, sendo totalmente submersas em solução de tetrazólio (2-3-5 trifenil cloreto de tetrazólio), com concentração de 0,075%, e mantidas à temperatura de 40 °C por aproximadamente 150 e 240 minutos para as sementes de tegumento amarelo e preto, respectivamente. Após o processo de coloração, as sementes foram lavadas com água corrente e mantidas submersas em água até o momento da avaliação. Posteriormente, as sementes foram avaliadas individualmente, seccionando-as longitudinalmente e simetricamente, com o auxílio de lâmina de bisturi e classificadas de acordo com os critérios propostos por França Neto et al.

(1998). A viabilidade foi representada pela soma das porcentagens das sementes pertencentes às classes de 1 a 5, o nível de vigor, pelas classes de 1 a 3, e a perda de viabilidade, pelas classes de 6 a 8. Além disso, foram caracterizadas as causas da redução da qualidade fisiológica das sementes, contabilizando os danos por umidade, percevejo e mecânico, nas classes de 1-8 e de 6-8. Os resultados foram expressos em porcentagem.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 8 (períodos de armazenamento x cultivares), com quatro repetições. Os dados foram analisados, separadamente para cada ambiente, quanto à normalidade e homocedasticidade, utilizando-se os testes de Shapiro-Wilk e de Hartley, respectivamente. Os dados de danos por umidade, percevejo e mecânico foram transformados em raiz quadrada de $x + 0,5$. Foi realizada análise de variância a 5% de probabilidade. As médias das cultivares foram comparadas pelo teste de Scott-Knott e, para os períodos de armazenamento foi realizada análise de regressão. As análises foram executadas por meio do programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011). No período de 0 e 6 meses de armazenamento foi calculado os coeficientes de correlação de Pearson (r) para as variáveis de qualidade fisiológica analisadas em relação aos teores de lignina e de isoflavona, a 5% de probabilidade, utilizando o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2018).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo do quadro de análise de variância das características de qualidade fisiológica de sementes de soja para a interação entre cultivares e períodos de armazenamento e seus respectivos efeitos isolados, para ambos os ambientes de armazenamento, são apresentados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Quadro de análise de variância para as características de qualidade fisiológica de sementes de soja, em função da cultivar e período de armazenamento em dois ambientes.

Câmara fria						
Quadrados médios						
FV	GL	GER	PCG	EMA	IVE	CTP
Cultivar (C)	7	135,33**	541,23**	93,33**	18,36**	128,06**
Período (P)	3	178,14**	363,02**	55,68**	27,61**	1016,74**
C x P	21	10,07 ^{ns}	13,33 ^{ns}	5,83 ^{ns}	1,33**	22,00**
Erro	96	9,80	26,74	9,52	0,62	2,14
Média		90	82	90	18,99	24,03
CV (%)		3,49	6,32	3,42	4,17	6,09
FV	GL	TZ VIA	TZ VIG	MC(1-8)	MC(6-8)	
Cultivar (C)	7	142,48**	271,31**	6,32**	4,15**	
Período (P)	3	87,36**	393,52**	8,23**	3,47**	
C x P	21	9,33*	24,62**	0,26**	0,14 ^{ns}	
Erro	96	5,60	11,73	0,09	0,18	
Média		90	83	13	7	
CV (%)		2,62	4,15	8,63	16,68	
FV	GL	UM(1-8)	UM(6-8)	PER(1-8)	PER(6-8)	
Cultivar (C)	7	1,24**	3,20**	15,90**	2,48**	
Período (P)	3	4,90**	1,42**	1,71**	1,45**	
C x P	21	0,92**	0,46**	0,76**	0,47**	
Erro	96	0,14	0,16	0,16	0,10	
Média		44	2	9	1	
CV (%)		5,67	30,99	13,43	29,68	
Ambiente não controlado						
FV	GL	GER	PCG	EMA	IVE	CTP
Cultivar (C)	7	171,01**	485,41**	184,73**	25,65**	216,84**
Período (P)	3	721,39**	1686,87**	514,04**	135,12**	891,14**
C x P	21	16,81*	56,11*	16,27*	3,02**	38,42**
Erro	96	8,84	32,62	7,96	0,35	1,68
Média		87	79	88	17,95	22,45
CV (%)		3,41	7,26	3,22	3,32	5,78
FV	GL	TZ VIA	TZ VIG	MC(1-8)	MC(6-8)	
Cultivar (C)	7	196,78**	305,12**	5,10**	4,10**	
Período (P)	3	521,32**	1081,34**	13,86**	7,35**	
C x P	21	14,53*	57,75**	0,44**	0,33 ^{ns}	
Erro	96	7,52	10,77	0,11	0,20	
Média		88	80	14	8	
CV (%)		3,13	4,11	9,42	16,37	
FV	GL	UM(1-8)	UM(6-8)	PER(1-8)	PER(6-8)	
Cultivar (C)	7	1,60*	6,83**	14,90**	5,06**	
Período (P)	3	18,70**	6,08**	1,66**	0,37 ^{ns}	
C x P	21	1,05**	0,60**	0,47**	0,24 ^{ns}	
Erro	96	0,11	0,19	0,15	0,14	
Média		55	3	10	1	
CV (%)		4,65	26,26	12,36	31,93	

^{ns}: não significativo e **, * significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

GER: germinação; PCG: primeira contagem de germinação; EMA: emergência de plântulas; IVE: índice de velocidade de emergência; CTP: comprimento total de plântula; TZ VIA: viabilidade avaliada pelo teste de tetrazólio; TZ VIG: vigor avaliado pelo teste de tetrazólio; MC (1-8): dano mecânico classe tetrazólio 1-8; MC (6-8): dano mecânico classe tetrazólio 6-8; UM (1-8): dano por umidade classe tetrazólio 1-8; UM (6-8): dano por umidade classe tetrazólio 6-8; PER (1-8): dano por percevejo classe tetrazólio 1-8; PER (6-8): dano por percevejo classe tetrazólio 6-8.

Para o teste de germinação, no armazenamento das sementes em câmara fria, foi observado que a cultivar B apresentou a maior porcentagem de

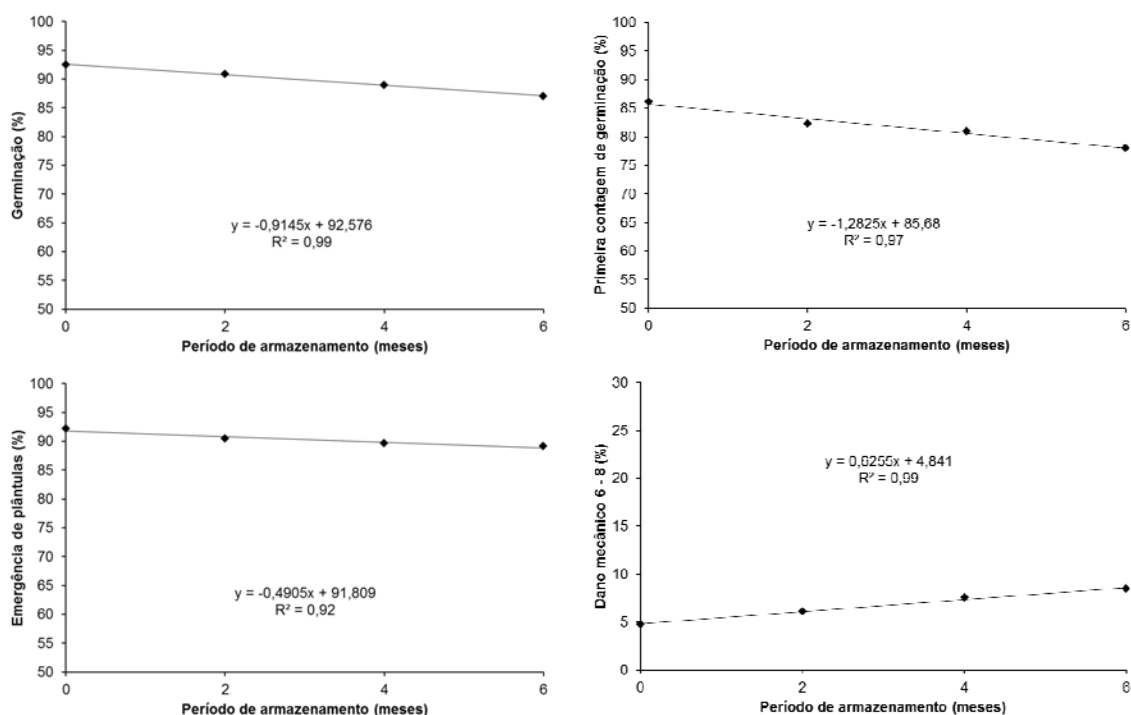
germinação, enquanto os menores valores foram das cultivares D e F, considerando a média dos quatro períodos de armazenamento (Tabela 3.3). A porcentagem de germinação reduziu linearmente com o aumento do período de armazenamento, diminuindo em média 5 pontos percentuais após seis meses de armazenamento (Figura 3.2).

Tabela 3.3 – Germinação (GER), primeira contagem de germinação (PCG), emergência de plântulas (EMA) e dano mecânico classe 6-8 pelo teste de tetrazólio (MC 6-8) de sementes de soja em função de cultivares, média de quatro avaliações ao longo do período de seis meses de armazenamento em condições de câmara fria.

Cultivar	GER (%)	PCG (%)	EMA (%)	MC 6-8 (%)
A	90 c	86 b	89 c	5 b
B	95 a	91 a	95 a	3 a
C	90 c	84 b	89 c	10 d
D	87 d	78 c	90 c	5 b
E	93 b	85 b	92 b	6 b
F	86 d	74 c	87 d	5 b
G	89 c	81 b	90 c	9 c
H	89 c	76 c	91 c	11 d

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

Figura 3.2 – Germinação, primeira contagem de germinação, emergência de plântulas e dano mecânico classe 6-8 pelo teste de tetrazólio em função dos períodos de armazenamento em condições de câmara fria, média de oito cultivares de soja.



No armazenamento em ambiente não controlado, foi constatada interação entre os fatores estudados para a variável germinação (Tabela 3.2). Nas cultivares avaliadas não houve diferença na germinação das sementes no período de 0 meses (Tabela 3.4). Esse resultado é importante, visto que a qualidade inicial das sementes afeta diretamente a intensidade e a velocidade de deterioração durante o armazenamento. Nos demais períodos de armazenamento, as cultivares responderam diferentemente e, aos seis meses, os menores valores foram encontrados nas cultivares D e F, seguido da cultivar C (Tabela 3.4). Neste ambiente é válido destacar que essas cultivares, após seis meses de armazenamento, apresentaram germinação abaixo do padrão mínimo necessário para a comercialização de sementes de soja, que de acordo com a legislação é de 80% (BRASIL, 2013), diferente do comportamento observado em câmara fria, em que todas as cultivares poderiam ser comercializadas.

Tabela 3.4 – Germinação (GER), primeira contagem de germinação (PCG), emergência de plântulas (EMA), índice de velocidade de emergência (IVE) e comprimento total de plântula (CTP) de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de ambiente não controlado.

Cultivar	GER (%)				PCG (%)			
	Período de armazenamento (meses)				Período de armazenamento (meses)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
A	92 a	89 b	88 a	86 b	91 a	85 a	79 a	75 a
B	95 a	95 a	90 a	91 a	93 a	92 a	85 a	84 a
C	92 a	86 b	83 b	79 c	87 a	79 b	79 a	75 a
D	91 a	89 b	81 b	75 d	84 b	84 a	67 b	60 b
E	95 a	90 b	88 a	85 b	88 a	84 a	81 a	77 a
F	89 a	86 b	81 b	74 d	78 b	74 b	73 b	62 b
G	95 a	92 a	85 a	83 b	90 a	86 a	72 b	63 b
H	93 a	90 b	86 a	82 b	81 b	80 b	74 b	65 b

Cultivar	EMA (%)				IVE			
	0	2	4	6	0	2	4	6
A	90 b	92 b	87 b	85 b	20,03 a	20,14 b	17,32 c	16,99 b
B	98 a	96 a	93 a	91 a	20,75 a	20,99 a	20,14 a	19,35 a
C	90 b	85 c	85 b	83 b	19,52 a	19,11 c	17,19 c	16,04 b
D	91 b	88 c	83 b	77 c	19,94 a	19,69 b	16,94 c	13,39 c
E	94 a	93 b	88 b	87 a	20,21 a	20,36 b	18,40 b	16,70 b
F	88 b	89 c	79 c	79 c	18,41 b	18,85 c	15,95 d	13,60 c
G	93 a	88 c	85 b	83 b	19,60 a	18,39 c	15,64 d	13,02 c
H	95 a	87 c	86 b	80 c	18,94 b	18,51 c	17,16 c	13,48 c

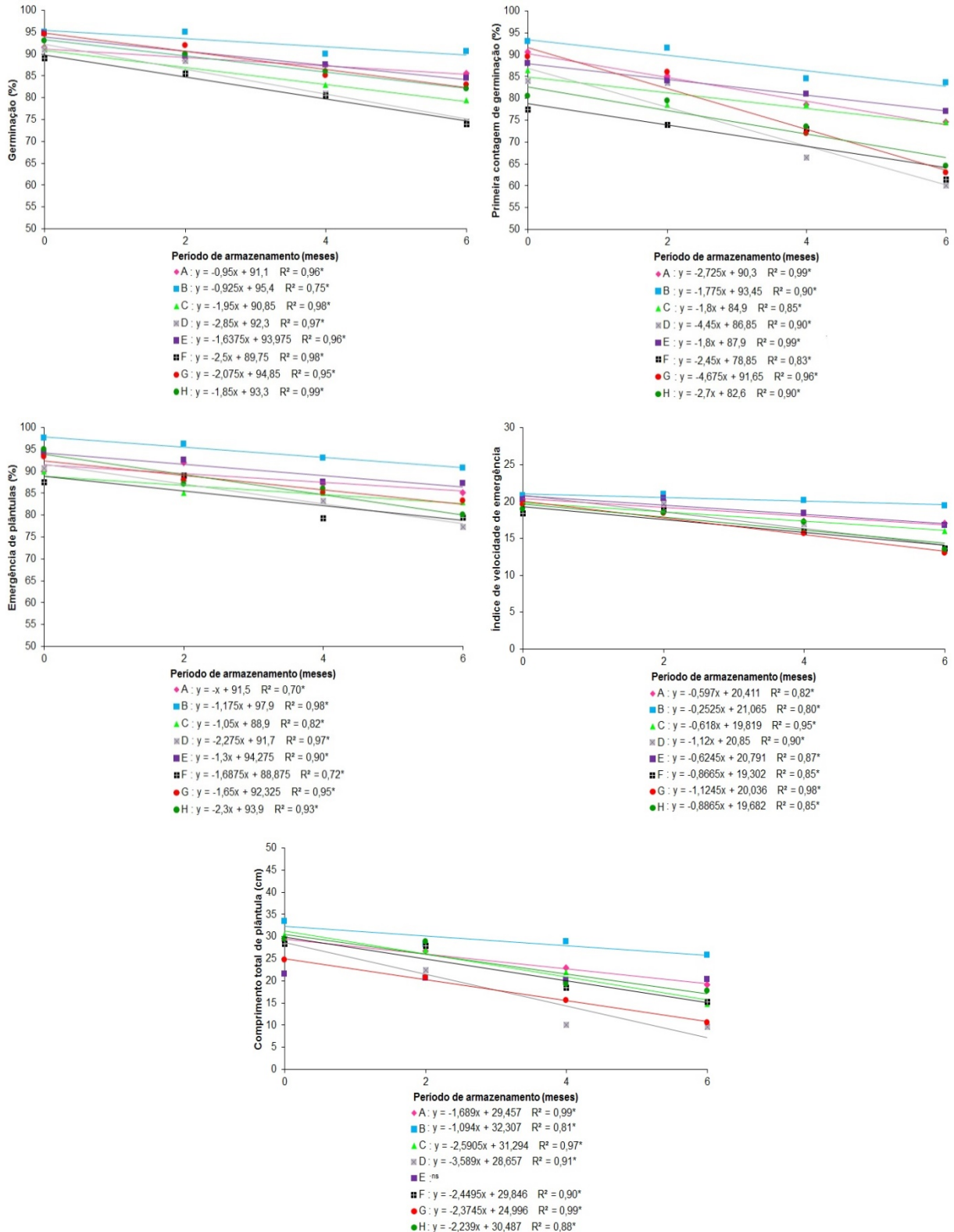
Cultivar	CTP (cm)			
	0	2	4	6
A	29,04 b	26,62 a	22,87 b	19,03 b
B	33,33 a	28,15 a	28,80 a	25,82 a
C	30,37 b	26,98 a	21,97 b	14,77 d
D	29,43 b	22,43 b	10,08 e	9,62 e
E	21,43 d	20,65 b	20,18 c	20,32 b
F	28,38 b	27,91 a	18,52 c	15,18 d
G	24,68 c	20,71 b	15,52 d	10,58 e
H	29,42 b	28,75 a	19,25 c	17,66 c

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

Ao longo do período de armazenamento no ambiente não controlado, todas as cultivares apresentaram reduções lineares nos valores de germinação, contudo menores taxas de decréscimos foram verificadas nas cultivares A e B (Figura 3.3). Essa menor redução possivelmente está relacionada aos maiores valores de lignina e presença de antocianina no tegumento e isoflavonas nas sementes destas cultivares, os quais contribuíram para a manutenção da qualidade inicial das sementes ao longo do armazenamento. Fato este comprovado pela análise de correlação descrita nesse trabalho.

Figura 3.3 – Germinação, primeira contagem de germinação, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência e comprimento total de plântula de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de ambiente não controlado.

^{ns} e * regressão não significativa e significativa, respectivamente, a 5% de probabilidade.



A antocianina, acumulada no tegumento de sementes de soja preta, e as isoflavonas possuem ação antioxidante (BARBOSA et al., 2006; KAHKONEN; HEINONEN, 2003; SAKTHIVELU et al., 2008; ZABALA; VODKIN, 2014). Os antioxidantes atuam na proteção das células, evitando a formação de radicais livres ou promovendo o sequestro ou a degradação dessas moléculas (BARBOSA et al., 2010; SERKEDJIEVA, 2011). Em condições inadequadas de armazenamento, tais como elevada temperatura e UR do ar e ataque de patógenos, há maior produção de radicais livres nas sementes, com isso, a atuação de sistemas de defesa antioxidantes, seja enzimático ou não enzimático, é fundamental para evitar e/ou retardar o estresse oxidativo.

Para a primeira contagem de germinação, na câmara fria, a cultivar B apresentou o maior valor (Tabela 3.3). Para os períodos de armazenamento, os dados referentes a primeira contagem se ajustaram a equação linear, com coeficiente angular de -1,28, assim, houve redução do vigor com o decorrer do armazenamento (Figura 3.2).

No ambiente não controlado, as cultivares A, B, C, E e G apresentaram maior velocidade de germinação no período anterior ao armazenamento (0 meses). Já, as que demonstraram melhores resultados aos 2 meses foram as cultivares: A, B, D, E e G e aos 4 e 6 meses: A, B, C e E (Tabela 3.4). Observou-se que há redução na velocidade de germinação com o aumento do período de armazenamento, para todas as cultivares estudadas, entretanto as cultivares D e G, as quais possuem os menores valores de lignina no tegumento, foram as que apresentaram as maiores taxas, com -4,45 e -4,68% ao mês, respectivamente (Figura 3.3), o que caracteriza uma maior deterioração dessas sementes.

A lignina é considerada um dos principais fatores que influenciam a qualidade e a deterioração das sementes (BELALLOUI; SMITH; MENGISTU, 2017; KRZYZANOWSKI; FRANÇA-NETO, 2018). Corroborando essa afirmação, Marwanto e Marlinda (2003) verificaram que o teor de lignina no tegumento apresentou correlação negativa com a deterioração das membranas, associado à redução da qualidade de sementes após o armazenamento.

No armazenamento em câmara fria, verificou-se que as sementes das cultivares B e F resultaram em maior e menor número de plântulas emergidas, respectivamente (Tabela 3.3). Além disso, foi observada redução linear no número

de plântulas emergidas no decorrer do armazenamento, para todas as cultivares (Figura 3.2). Contudo, essa redução foi baixa, considerando a média de 2,9 pontos percentuais após seis meses de armazenamento.

No ambiente não controlado, constatou-se aos seis meses de armazenamento maiores porcentagens de plântulas emergidas nas cultivares B e E e, menores nas cultivares D, F e H (Tabela 3.4). Com isso, considerando que os maiores teores de isoflavonas foram encontrados na cultivar B, seguido das cultivares A e H, não é possível fazer uma relação desse composto com o número de plântulas emergidas, já que a cultivar H está no grupo das que obtiveram os menores valores dessa variável. A análise de correlação, descrita nesse trabalho e por Teekachunhatean, Hanprasertpong e Teekachunhatean (2013), confirmam que não há dependência entre esses dois parâmetros. Ainda, para a mesma variável, o aumento no período de armazenamento acarretou redução na emergência de plântulas em todas as cultivares, entretanto essas apresentaram diferentes taxas de declínio (Figura 3.3).

A partir dos resultados de germinação, primeira contagem de germinação e emergência de plântulas em areia, pode-se observar que as cultivares comportaram-se de maneira semelhante perante os períodos de armazenamento em câmara fria, no qual há controle de temperatura e UR. Contudo quando as sementes foram armazenadas em ambiente não controlado, detectou-se diferentes respostas das cultivares. Com isso, confirma-se que o potencial de armazenamento de sementes de soja também está diretamente relacionado a características genéticas da cultivar, conforme relatado por Rosa et al. (2017).

Para o índice de velocidade de emergência (IVE) verificou-se interação entre os fatores estudados, nos dois ambientes de armazenamento (Tabela 3.2). Na câmara fria, os menores valores para esta variável foram encontrados, no período inicial, nas cultivares F e H e, aos seis meses, nas cultivares G e H, seguido das cultivares C, D e F (Tabela 3.5). Para efeito do armazenamento, o aumento dos períodos ocasionou reduções no IVE das cultivares A, C, D, F, G e H. Para as demais cultivares não houve decréscimo significativo na velocidade de emergência com o decorrer do tempo de armazenamento (Figura 3.4).

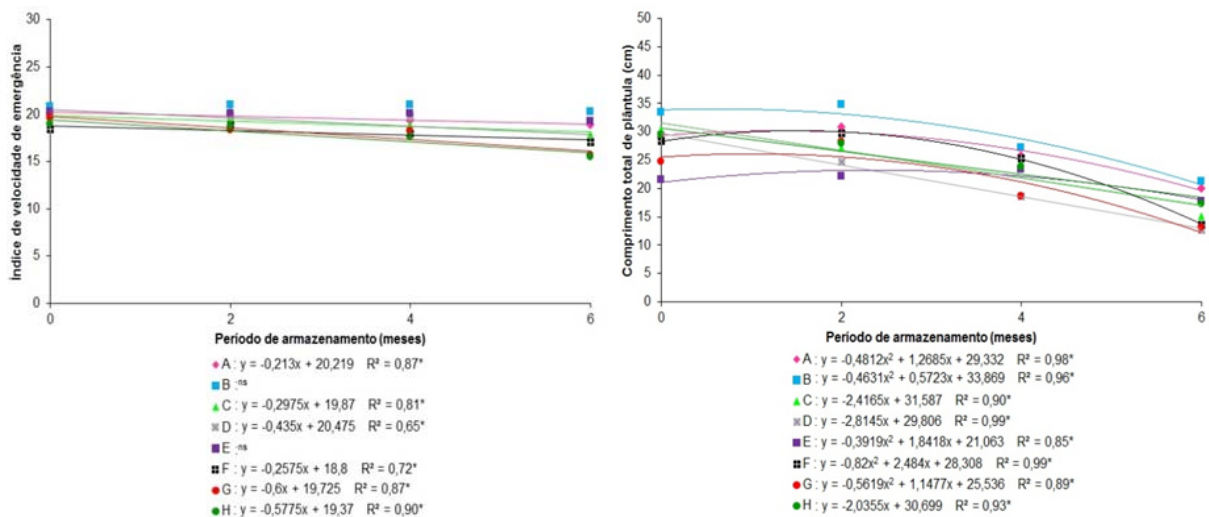
Tabela 3.5 – Índice de velocidade de emergência (IVE) e comprimento total de plântula (CTP) de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria.

Cultivar	IVE				CTP (cm)			
	Período de armazenamento (meses)				Período de armazenamento (meses)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
A	20,03 a	20,10 a	19,32 b	18,87 b	29,04 b	30,82 b	25,83 a	19,91 a
B	20,75 a	20,95 a	20,98 a	20,20 a	33,33 a	34,78 a	27,13 a	21,17 a
C	19,52 a	19,70 a	18,88 c	17,81 c	30,37 b	27,19 c	24,70 b	15,09 c
D	19,94 a	19,89 a	19,77 b	17,08 c	29,43 b	24,69 d	18,65 c	12,68 c
E	20,21 a	20,08 a	20,01 b	19,17 b	21,43 d	22,08 e	23,26 b	17,64 b
F	18,41 b	18,81 b	17,89 c	17,00 c	28,38 b	29,78 b	25,34 a	13,62 c
G	19,60 a	18,28 b	18,19 c	15,63 d	24,68 c	28,15 c	18,57 c	13,05 c
H	18,94 b	18,63 b	17,52 c	15,46 d	29,42 b	27,91 c	23,83 b	17,21 b

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

Figura 3.4 – Índice de velocidade de emergência e comprimento total de plântula de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria.

^{ns} e * regressão não significativa e significativa, respectivamente, a 5% de probabilidade.



No ambiente não controlado, aos seis meses de armazenamento, os menores valores de IVE foram encontrados nas cultivares D, F, G e H (Tabela 3.4). Para o período de armazenamento, observou-se equações com ajuste linear decrescente em todas as cultivares, sendo esta redução menos acentuada nas cultivares A e B, as quais apresentam tegumento preto e maiores teores de lignina (Figura 3.3). Resultados similares foram encontrados por Smaniotto et al. (2014), ao verificarem que a velocidade de germinação das sementes de soja decresce ao longo do armazenamento.

Quanto ao comprimento de plântulas, no período inicial, a cultivar B apresentou maior comprimento total de plântula em relação às demais. Aos seis

meses de armazenamento, no ambiente câmara fria, as cultivares A e B (Tabela 3.5) e, no ambiente não controlado, as cultivares B, seguida da A e E (Tabela 3.4), demonstraram maior comprimento.

Para os períodos de armazenamento, em câmara fria, foi possível observar na figura 3.4 que os resultados de comprimento total de plântulas ajustaram-se a um modelo polinomial quadrático nas cultivares A, B, E, F e G e a um modelo linear decrescente nas demais cultivares. Já no armazenamento em condições não controladas, o ajuste mais apropriado para todas as cultivares foi o linear decrescente, exceto para a cultivar E, a qual não foi observado efeito significativo do período de armazenamento, demonstrando assim, que essa cultivar manteve os valores de comprimento total de plântula ao longo deste período. Também é válido destacar que as cultivares A e B, as quais apresentam tegumento preto e maiores teores de lignina, foram as que apresentaram menores taxas de decréscimos (Figura 3.3). Esse resultado corrobora aos demais resultados observados nos testes de qualidade fisiológica, em que estas cultivares apresentaram maior resistência à deterioração ao longo do armazenamento, principalmente no ambiente não controlado.

Em relação ao teste de tetrazólio, foi observado que as sementes das cultivares A, B, E e G apresentavam maior viabilidade no momento anterior ao armazenamento, contudo é importante destacar que a variação entre os valores de viabilidade das cultivares foi de 90 a 96%, sendo assim, todas apresentavam elevada qualidade fisiológica (Tabela 3.6; 3.7). Aos seis meses, verificou-se que as sementes das cultivares A, B e E armazenadas em câmara fria mantiveram os melhores resultados (Tabela 3.6). Conforme aumentou-se o período de armazenamento houve redução na viabilidade das sementes nas cultivares A, F, G e H, enquanto que nas demais cultivares, não foi possível observar redução significativa (Figura 3.5).

Em condições de ambiente não controlado, verificou-se comportamentos distintos para algumas cultivares quanto à viabilidade, com destaque para as cultivares de tegumento preto (A e B), as quais a partir do quarto mês de armazenamento já se mostraram superiores em comparação às demais (Tabela 3.7). Em relação ao efeito do período de armazenamento, observaram-se reduções lineares na viabilidade para todas as cultivares, contudo menores taxas de decréscimos foram verificadas nas cultivares A e B (Figura 3.6).

Tabela 3.6 – Viabilidade, vigor, danos mecânicos, por umidade e percevejo, avaliados pelo teste de tetrazólio, classes 1-8 e 6-8, de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria.

Cultivar	TZ Viabilidade (%)				TZ Vigor (%)			
	Período de armazenamento (meses)				Período de armazenamento (meses)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
A	96 a	94 a	94 a	92 a	90 a	88 a	87 a	83 a
B	95 a	94 a	95 a	95 a	88 a	89 a	85 a	84 a
C	90 b	89 b	88 b	89 b	84 b	82 b	81 b	80 a
D	92 b	89 b	89 b	89 b	86 b	81 b	81 b	80 a
E	94 a	93 a	93 a	92 a	91 a	89 a	88 a	83 a
F	90 b	88 b	86 b	86 c	80 b	79 b	77 c	76 b
G	94 a	93 a	86 b	86 c	90 a	89 a	76 c	76 b
H	91 b	86 b	85 b	85 c	85 b	78 b	72 c	72 b
Cultivar	Mecânico 1-8 (%)				Umidade 1-8 (%)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
	A	3 a	10 b	11 a	14 b	42 c	45 b	34 a
B	5 a	5 a	8 a	11 a	49 c	31 a	50 b	55 b
C	12 c	18 d	19 c	19 c	44 c	49 b	48 b	49 b
D	9 b	15 c	15 b	17 c	44 c	47 b	41 a	51 b
E	9 b	10 b	11 a	13 b	25 a	36 a	41 a	49 b
F	4 a	7 a	10 a	10 a	38 b	45 b	48 b	54 b
G	8 b	13 c	19 c	21 d	38 b	35 a	51 b	55 b
H	15 c	18 d	22 d	21 d	37 b	42 b	51 b	56 b
Cultivar	Umidade 6-8 (%)				Percevejo 1-8 (%)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
	A	0 a	1 a	0 a	0 a	13 b	13 c	10 c
B	0 a	1 a	0 a	0 a	21 c	19 d	16 d	14 c
C	1 a	1 a	2 b	1 a	11 b	3 a	8 c	5 a
D	4 b	6 b	3 b	4 b	8 a	4 a	9 c	4 a
E	1 a	1 a	0 a	1 a	6 a	7 b	5 b	5 a
F	1 a	6 b	2 b	5 b	24 c	18 d	17 d	22 d
G	0 a	1 a	3 b	3 b	4 a	2 a	0 a	3 a
H	0 a	2 a	2 b	2 a	7 a	11 c	4 b	8 b
Cultivar	Percevejo 6-8 (%)							
	0	2	4	6				
	A	1 b	0 a	1 b	0 a			
B	3 c	2 b	2 b	0 a				
C	0 a	0 a	0 a	0 a				
D	0 a	1 b	3 c	0 a				
E	2 b	1 b	0 a	0 a				
F	6 d	2 b	5 d	2 b				
G	0 a	0 a	0 a	0 a				
H	1 b	1 b	0 a	0 a				

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

Tabela 3.7 – Viabilidade, vigor, danos mecânicos, por umidade e percevejo, avaliados pelo teste de tetrazólio, classes 1-8 e 6-8, de sementes de soja ao longo do período de armazenamento em condições de ambiente não controlado.

Cultivar	TZ Viabilidade (%)				TZ Vigor (%)			
	Período de armazenamento (meses)				Período de armazenamento (meses)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
A	96 a	95 a	91 a	91 a	90 a	85 a	83 a	83 a
B	95 a	92 a	91 a	91 a	88 a	84 a	82 a	84 a
C	90 b	86 b	84 b	83 c	84 b	80 b	78 b	77 b
D	92 b	84 b	84 b	78 c	86 b	77 b	75 c	60 d
E	94 a	92 a	86 b	86 b	91 a	84 a	80 a	80 b
F	90 b	88 b	81 b	80 c	80 b	77 b	72 c	67 c
G	94 a	87 b	85 b	81 c	90 a	85 a	78 b	68 c
H	91 b	88 b	83 b	79 c	85 b	84 a	77 b	66 c

Cultivar	Mecânico 1-8 (%)				Umidade 1-8 (%)			
	Período de armazenamento (meses)				Período de armazenamento (meses)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
A	3 a	6 a	13 b	13 a	42 c	54 a	44 a	52 a
B	5 a	9 b	7 a	15 a	49 c	48 a	49 a	53 a
C	12 c	19 c	18 c	22 c	44 c	58 b	61 b	63 b
D	9 b	18 c	17 c	21 c	44 c	51 a	61 b	69 b
E	9 b	11 b	18 c	18 b	25 a	49 a	64 b	65 b
F	4 a	8 a	13 b	14 a	38 b	63 b	65 b	71 b
G	8 b	10 b	17 c	25 d	38 b	61 b	63 b	68 b
H	15 c	17 c	16 c	25 d	37 b	69 c	60 b	79 c

Cultivar	Umidade 6-8 (%)				Percevejo 1-8 (%)			
	Período de armazenamento (meses)				Período de armazenamento (meses)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
A	0 a	0 a	1 a	0 a	13 b	11 b	9 a	13 b
B	0 a	1 a	1 a	1 a	21 c	20 c	18 c	14 b
C	1 a	2 a	3 b	4 b	11 b	4 a	9 a	7 a
D	4 b	6 b	9 d	13 d	8 a	6 a	8 a	5 a
E	1 a	3 a	1 a	3 b	6 a	4 a	7 a	4 a
F	1 a	3 a	6 c	8 c	24 c	23 c	25 d	22 c
G	0 a	7 b	6 c	7 c	4 a	6 a	5 a	4 a
H	0 a	2 a	3 b	2 b	7 a	4 a	13 b	4 a

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

Figura 3.5 – Viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria.

^{ns} e * regressão não significativa e significativa, respectivamente, a 5% de probabilidade.

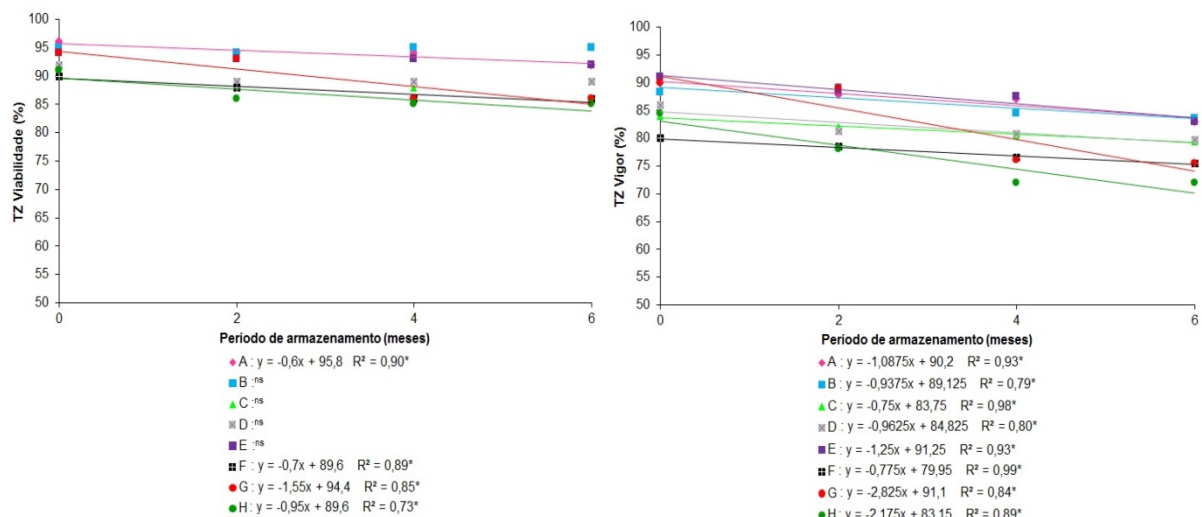
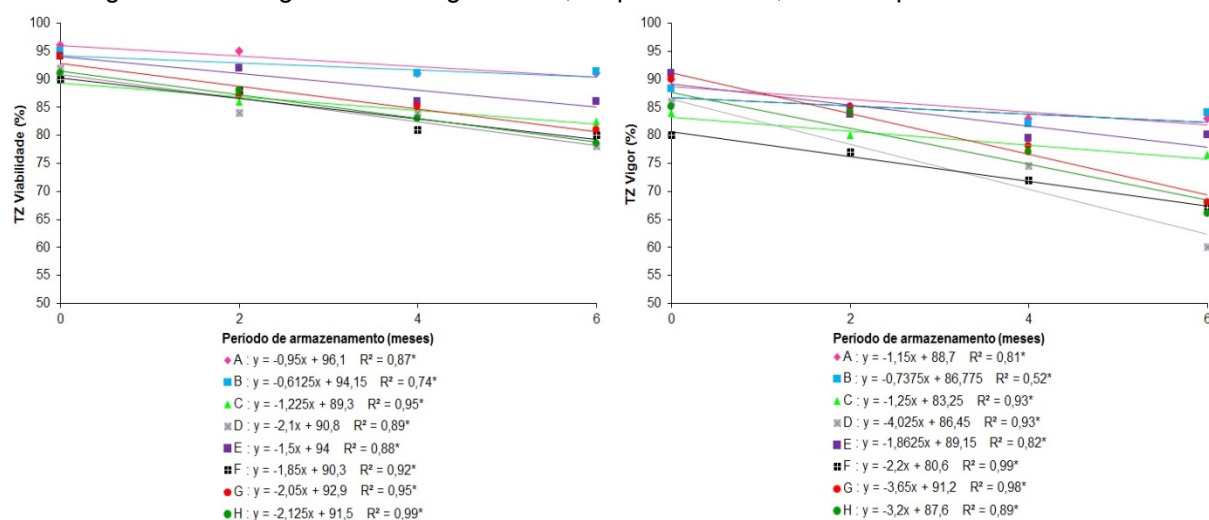


Figura 3.6 – Viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de ambiente não controlado.

^{ns} e * regressão não significativa e significativa, respectivamente, a 5% de probabilidade.



Para o vigor avaliado pelo teste de tetrazólio, as cultivares também responderam diferentemente, sendo que aos seis meses de armazenamento, no ambiente câmara fria, as cultivares A, B, C, D e E (Tabela 3.6) e, em condições não controladas, as cultivares A e B (Tabela 3.7) apresentaram maior vigor em comparação as demais. Resultados similares quanto à resposta das cultivares frente aos ambientes de armazenamento também foram constatados em outras variáveis, como a viabilidade. Desta forma, verifica-se que em um ambiente de armazenamento mais favorável (câmara fria), cultivares de tegumento amarelo e com menores valores de lignina e de isoflavona nas sementes, também apresentaram bom desempenho ao longo do armazenamento, enquanto que, em armazenamento sem controle de temperatura e umidade relativa, apenas as cultivares de tegumento preto e com maiores teores de lignina se destacaram positivamente em relação a conservação do potencial fisiológico.

Quanto ao efeito do período de armazenamento, foram constatadas reduções lineares no vigor das sementes nos dois ambientes (Figura 3.5; 3.6), no entanto, reduções mais acentuadas foram verificadas no ambiente não controlado, com taxas de decréscimo variando de 0,74 a 4,03 pontos percentuais por mês.

Essa redução da qualidade das sementes conforme se prolonga o período de armazenamento está relacionada com o processo natural de deterioração, sendo este acelerado em ambientes desfavoráveis a manutenção da

qualidade das sementes. Neste contexto, o melhor desempenho das sementes em câmara fria, provavelmente é devido este ambiente apresentar um microclima favorável para conservação da qualidade inicial das sementes. Em ambiente não controlado, as sementes, em virtude de seu caráter higroscópico, ficam expostas as condições adversas do ambiente, tais como oscilações de temperatura e umidade relativa, os quais, de acordo com Alhamdan et al. (2011) e Bewley et al. (2013), são considerados os fatores que mais influenciam a deterioração e conseqüentemente a longevidade das sementes.

No presente trabalho, em câmara fria, foi observado valores constantes de temperatura e UR, com média de 11 °C e 54% UR e, em ambiente não controlado, média de 25 °C e 71% UR, contudo com oscilações no decorrer do período de armazenamento, com temperaturas variando de 19,2 a 30 °C e UR 52 a 84% (Figura 3.1), o que certamente alterou o metabolismo das sementes, principalmente as de tegumento amarelo e com menores valores de lignina, e contribuiu com a redução do potencial de armazenamento das sementes armazenadas nesse ambiente.

Assim como observado nos dados de viabilidade, a cultivar que apresentou maior taxa de declínio no vigor ao longo do armazenamento em câmara fria foi a cultivar G, com redução de 1,55 e 2,82 pontos percentuais nos valores de viabilidade e vigor, respectivamente, para cada mês de armazenamento (Figura 3.5). Vale destacar que a cultivar G é a que possui os menores teores de lignina e de isoflavonas (Tabela 3.1), o que, possivelmente, está associado ao desempenho inferior verificado nessa cultivar.

No ambiente não controlado, as cultivares D, G e H apresentaram as maiores taxas de decréscimos, com reduções na viabilidade de 2,10; 2,05 e 2,13% e no vigor de 4,03; 3,65 e 3,20% por mês de armazenamento, respectivamente (Figura 3.6). Esses resultados demonstram e sustentam as definições mencionadas por diversos autores sobre as manifestações fisiológicas que ocorrem durante a deterioração das sementes, no qual à medida que as sementes se deterioram, reduz-se primeiramente o vigor e por fim a viabilidade (DELOUCHE; BASKIN, 1973; MARCOS FILHO, 2015; SHABAN; MOTLAGH, 2014).

Para os danos mecânicos, classes 1-8, avaliados pelo teste de tetrazólio, todas as cultivares apresentaram incidência na avaliação inicial, sendo esta mais elevada nas cultivares C e H. Aos seis meses de armazenamento, as

cultivares G e H apresentaram os maiores valores, em ambos os ambientes de armazenamento (Tabela 3.6; 3.7). Houve evolução dos danos mecânicos nos dois ambientes de armazenamento, entretanto, em todas as cultivares verificou-se maiores taxas de acréscimo no ambiente não controlado (Figura 3.7; 3.8). Isso comprova, mais uma vez, que as condições de armazenamento predominantes no ambiente não controlado, na região onde foi realizado no experimento, são insatisfatórias para a manutenção da qualidade das sementes.

Quanto aos danos mecânicos, classes 6-8, observaram-se, em ambos os ambientes, efeito isolado de cultivar e períodos de armazenamento, no qual as cultivares C e H apresentaram os maiores valores, considerando a média dos quatro períodos de armazenamento (Tabela 3.3; 3.8). Nos dois ambientes houve aumento na incidência dos danos mecânicos, com taxas mais acentuadas no ambiente não controlado (0,99% ao mês – Figura 3.9) em relação à câmara fria (0,62% ao mês – Figura 3.2). Terasawa et al. (2009) e Moreano et al. (2011) também observaram aumento do dano mecânico durante o período de armazenamento de sementes de soja, respectivamente.

Figura 3.7 – Danos mecânicos, por umidade e percevejo, avaliados pelo teste de tetrazólio, classes 1-8 e 6-8, de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria.

^{ns} e * regressão não significativa e significativa, respectivamente, a 5% de probabilidade.

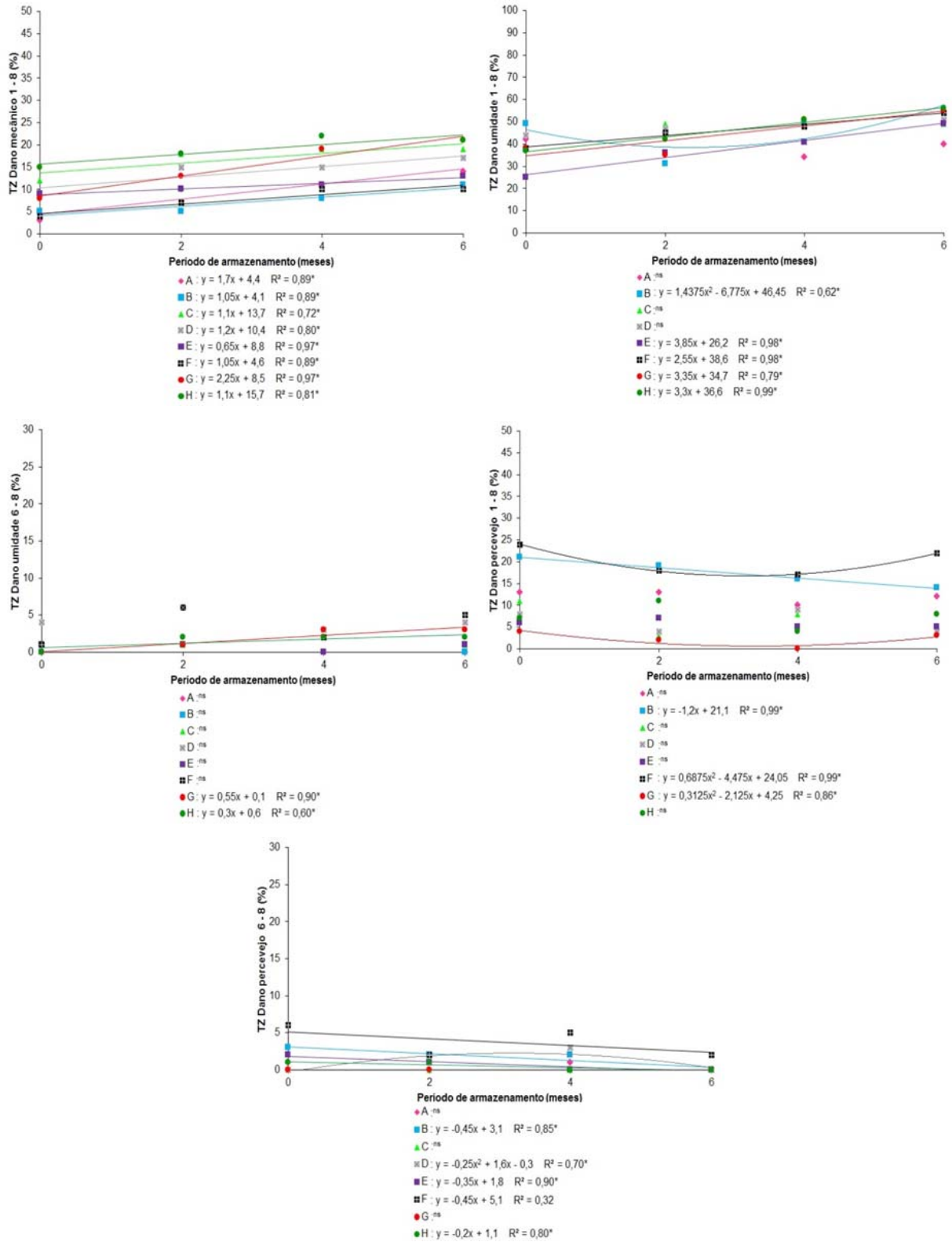


Figura 3.8 – Danos mecânicos, por umidade e percevejo, avaliados pelo teste de tetrazólio, classes 1-8 e 6-8, de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de ambiente não controlado.

^{ns} e * regressão não significativa e significativa, respectivamente, a 5% de probabilidade.

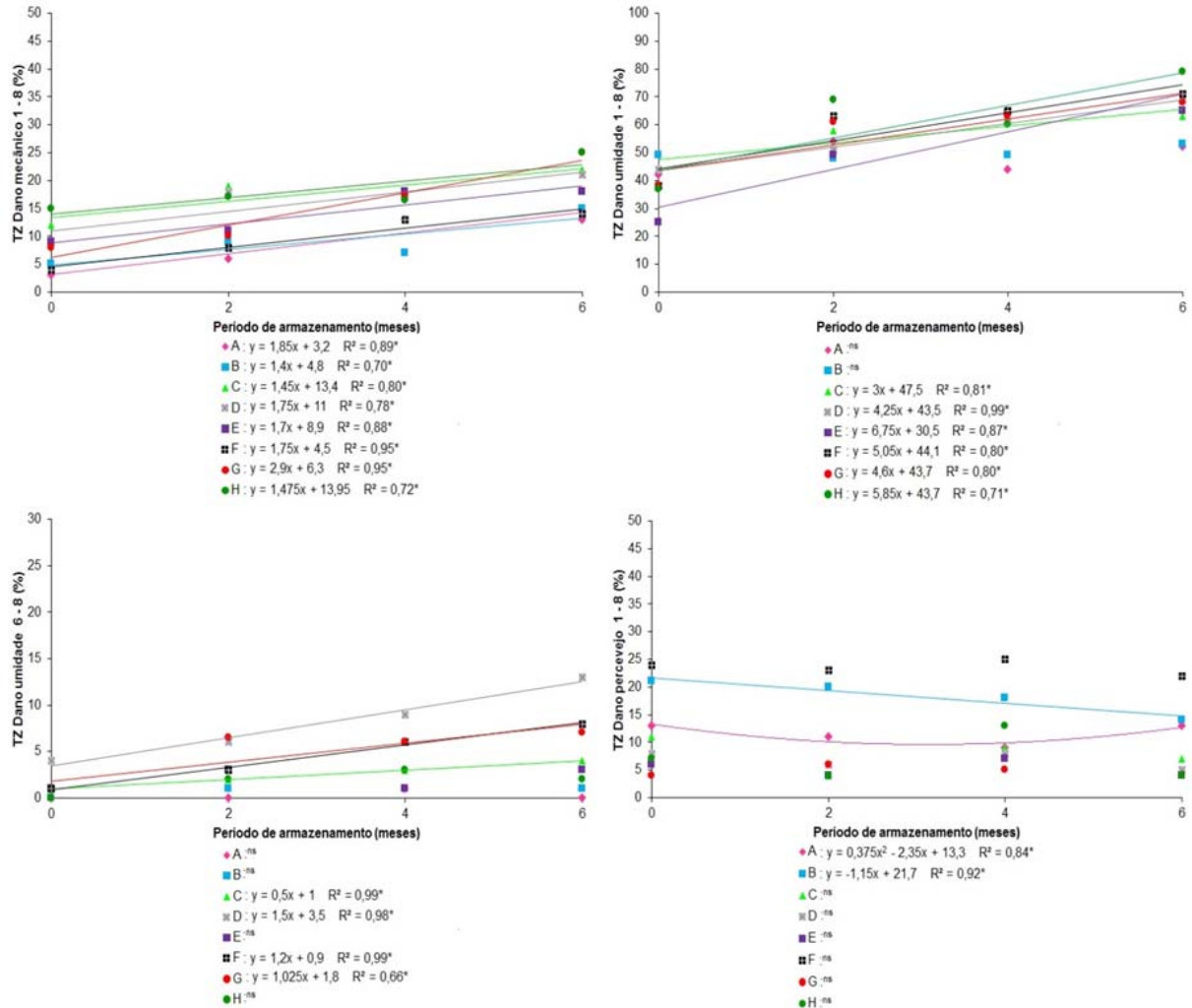
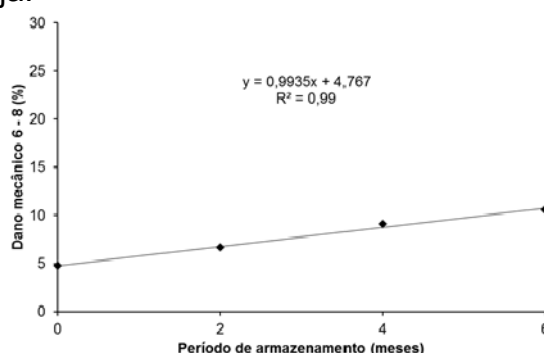


Tabela 3.8 – Dano mecânico (MC 6-8) e por percevejo (PER 6-8), classes 6-8, avaliados pelo teste de tetrazólio em sementes de soja em função de cultivares, média de quatro avaliações, ao longo do período de seis meses de armazenamento em condições de ambiente não controlado.

Cultivar	MC 6-8 (%)	PER 6-8 (%)
A	6 a	1 a
B	4 a	3 b
C	12 c	0 a
D	7 b	0 a
E	8 b	1 a
F	5 a	5 c
G	8 b	0 a
H	13 c	1 a

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

Figura 3.9 – Dano mecânico (MC 6-8) classe 6-8 pelo teste de tetrazólio em função dos períodos de armazenamento em condições de ambiente não controlado, média de oito cultivares de soja.



Em relação aos danos por umidade, classes 1-8, verifica-se que todas as cultivares apresentaram incidência desse dano. Aos seis meses de armazenamento, em câmara fria, a cultivar A (Tabela 3.6) e, em ambiente não controlado, as cultivares A e B (Tabela 3.7) obtiveram os menores valores. Nos dois ambientes foi constatada, em algumas cultivares, evolução desses danos ao longo do armazenamento, com maiores coeficientes angulares no ambiente não controlado, com aumento de danos de até 40% (Figura 3.7; 3.8). Resultados similares quanto à maior evolução dos danos por umidade em ambiente de armazenamento não controlado foram observados por Forti, Cícero e Pinto (2010).

Ainda em relação aos danos por umidade, classes 1-8, observou-se que no ambiente câmara fria não houve efeito significativo de período de armazenamento para as cultivares A, C e D (Figura 3.7). No ambiente não controlado, conforme relatado, houve oscilações nos valores de temperatura e da UR do ar, o que possivelmente contribuiu com o aumento desses danos em todas as cultivares, exceto nas cultivares A e B (Figura 3.8). Essas mantiveram os valores de incidência de danos por umidade totais similares aos observados inicialmente, devido aos elevados valores de lignina presentes nos tegumentos dessas cultivares, conforme comprovado pela análise de correlação ($r = -0,78$) descrita nesse trabalho.

Esse comportamento é devido à lignina apresentar natureza hidrofóbica e atuar diretamente na permeabilidade do tegumento (ZHAO; DIXON, 2011). Dessa forma, sementes com elevados teores de lignina apresentam uma menor permeabilidade no tegumento, o que, possivelmente, propicia uma maior tolerância das sementes as oscilações ambientais, justificando os resultados encontrados.

Para os danos por umidade, classes 6-8, que afetam diretamente a germinação das sementes, constatou-se baixa incidência anterior ao armazenamento, com o maior valor (4%) para a cultivar D. Aos seis meses de armazenamento, no ambiente não controlado, a cultivar D foi a que apresentou os maiores valores, com 13% de danos por umidade (Tabela 3.7). Assim como observado nas classes 1-8, houve evolução desse dano com o decorrer do armazenamento, em câmara fria para as cultivares G e H (Figura 3.7) e, em ambiente não controlado para as cultivares C, D, F e G (Figura 3.8).

Segundo França Neto et al. (2007), o dano por umidade é progressivo e mais acentuado ao longo do armazenamento, quando comparado aos demais danos associados as sementes de soja, como os mecânicos e por insetos, corroborando os resultados obtidos nesse trabalho.

Em relação aos danos por percevejo, classes 1-8, todas as cultivares apresentaram incidência (Tabela 3.6; 3.7). Para os períodos de armazenamento, verificou-se certa constância no nível de incidência de danos por percevejo, embora, em câmara fria, tenha sido observado ajuste quadrático para as cultivares B, F e G (Figura 3.7). Já para o ambiente não controlado, constatou-se ajuste quadrático para a cultivar A e linear decrescente para a cultivar B (Figura 3.8).

Para os danos por percevejo, classes 6-8, houve interação entre os fatores estudados para o ambiente câmara fria e efeito isolado de cultivar para o ambiente não controlado (Tabela 3.2). Neste último, a cultivar F apresentou maior incidência de danos (5%) em relação as demais cultivares (Tabela 3.8).

Na tabela 3.9 são apresentados os valores de correlação de Pearson para as variáveis de qualidade fisiológica analisadas em relação aos teores de lignina no tegumento e de isoflavona em sementes. Foi considerado apenas os valores que apresentaram correlação significativa com no mínimo dependência moderada ($r > 0,50$).

Para o teor de lignina, no período anterior ao armazenamento (0 meses) apenas as variáveis viabilidade e dano mecânico classes 1-8, avaliadas pelo teste de tetrazólio, apresentaram correlação positiva e negativa com esse metabólito, respectivamente (Tabela 3.9). Contudo, aos seis meses verificou-se correlação positiva do teor de lignina com germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de emergência, comprimento total de plântula e viabilidade e, correlação negativa com os danos por umidade classes 6-8, em ambos

os ambientes de armazenamento. Além disso, foi observada correlação positiva para emergência de plântulas e vigor e, correlação negativa para danos mecânicos e por umidade, classes 1-8, no ambiente não controlado. Com isso, e a partir dos resultados apresentados e discutidos anteriormente, nota-se que o teor de lignina afeta diretamente a manutenção da germinação e vigor ao longo do armazenamento, principalmente quando este é realizado em condições de ambiente não controlado.

Tabela 3.9 – Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os resultados das variáveis de qualidade fisiológica analisadas e os teores de lignina e de isoflavona em sementes de oito cultivares de soja, avaliados no período de zero (P0) e seis meses (P6) de armazenamento em câmara fria (CF) e em ambiente não controlado (NC).

	GER	PCG	EMA	IVE	CTP	TZ VIA	TZ VIG
Lignina P0	0,09 ^{ns}	0,47*	0,26 ^{ns}	0,49*	0,49*	0,54*	0,08 ^{ns}
Lignina P6 CF	0,61*	0,63*	0,24 ^{ns}	0,60*	0,79*	0,61*	0,48*
Lignina P6 NC	0,60*	0,53*	0,52*	0,77*	0,70*	0,76*	0,68*
Isoflavona P0	0,21 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,38*	0,36*	0,56*	0,29 ^{ns}	0,11 ^{ns}
Isoflavona P6 CF	0,51*	0,40*	0,17 ^{ns}	0,44*	0,78*	0,43*	0,26 ^{ns}
Isoflavona P6 NC	0,49*	0,41*	0,28 ^{ns}	0,61*	0,74*	0,48*	0,44*
	MC 1-8	MC 6-8	UM 1-8	UM 6-8	PER 1-8	PER 6-8	
Lignina P0	-0,54*	-0,44*	0,43*	-0,34 ^{ns}	0,46*	0,14 ^{ns}	
Lignina P6 CF	-0,45*	-0,38*	-0,28 ^{ns}	-0,57*	0,38*	-0,16 ^{ns}	
Lignina P6 NC	-0,63*	-0,44*	-0,78*	-0,57*	0,41*	0,20 ^{ns}	
Isoflavona P0	-0,13 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	0,31 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,12 ^{ns}	
Isoflavona P6 CF	-0,27 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	-0,51*	0,31 ^{ns}	-0,19 ^{ns}	
Isoflavona P6 NC	-0,40*	-0,10 ^{ns}	-0,40*	-0,56*	0,21 ^{ns}	0,03 ^{ns}	

^{ns} correlação não significativa e *significativa a 5% de probabilidade.

GER: germinação; PCG: primeira contagem de germinação; EMA: emergência de plântulas; IVE: índice de velocidade de emergência; CTP: comprimento total de plântula; TZ VIA: viabilidade avaliada pelo teste de tetrazólio; TZ VIG: vigor avaliado pelo teste de tetrazólio; MC 1-8: dano mecânico classe tetrazólio 1-8; MC 6-8: dano mecânico classe tetrazólio 6-8; UM 1-8: dano por umidade classe tetrazólio 1-8; UM 6-8: dano por umidade classe tetrazólio 6-8; PER 1-8: dano por percevejo classe tetrazólio 1-8; PER 6-8: dano por percevejo classe tetrazólio 6-8.

Para o teor de isoflavona nas sementes, no período anterior ao armazenamento (0 meses), foi observada correlação significativa com dependência moderada para o comprimento total de plântula. Aos seis meses de armazenamento, em ambos os ambientes, verificou-se correlação positiva com a variável comprimento total de plântula e correlação negativa para danos por umidade classes 6-8. Ainda, verificou-se correlação positiva entre o teor de isoflavona e as variáveis germinação e índice de velocidade de emergência, no ambiente câmara fria e não controlado, respectivamente (Tabela 3.9).

A partir da análise de correlação, principalmente em relação à isoflavona, verificou-se que apesar da significância dos resultados, praticamente na

maioria foram verificadas correlações fracas, observadas nos baixos valores do coeficiente de correlação linear (Tabela 3.9), indicando existir outros fatores que interferem na manutenção da qualidade das sementes. Desta forma, constata-se que o teor de lignina apresentou maior significância quanto à conservação da qualidade das sementes ao longo do armazenamento em relação ao teor de isoflavona.

Diante do exposto, verifica-se que os metabólitos oriundos da rota dos fenilpropanóides, especialmente o teor de lignina, contribuem com a manutenção da qualidade das sementes ao longo do armazenamento, principalmente quando as sementes são expostas a condições ambientais desfavoráveis. Além disso, dentro do grupo de cultivares com tegumento amarelo, notou-se diferentes níveis de tolerância ao armazenamento, e que, em condições de câmara fria, algumas dessas cultivares apresentaram desempenho semelhante às cultivares de tegumento preto, mostrando que possivelmente existem outros compostos presentes nas sementes relacionados ao potencial de armazenamento.

3.6 CONCLUSÕES

A qualidade fisiológica das sementes é reduzida ao longo do armazenamento, com maiores taxas de decréscimo no ambiente não controlado.

As cultivares apresentam comportamento diferenciado quanto a conservação do potencial fisiológico ao longo do armazenamento.

Os metabólitos da rota dos fenilpropanóides estudados, especialmente a lignina, interferem no potencial de armazenamento das sementes.

Cultivares com maiores teores de lignina apresentam maior potencial de armazenamento, principalmente em ambiente não controlado.

3.7 REFERÊNCIAS

ABRASEM – Associação Brasileira de Sementes e Mudanças. **Anuário 2016**. 2016. Disponível em: <http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2013/09/Anuario_ABRASEM_2016_SITE.pdf>. Acesso em: 23 jul. 2017.

ALHAMDAN, A. M.; ALSADON, A. A.; KHALIL, S. O.; WAHB-ALLAH, M. A.; NAGAR, M. E. L.; AIBRAHIMN, A. Influence of storage conditions on seed quality and

longevity of four vegetable crops. **American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science**, v. 11, p. 353-359, 2011.

ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. de L.; SCAPIM, A.; MANDARINO, J. M. G.; ALBRECHT, L. P.; VIDIGAL FILHO, P. S. Componentes do rendimento, teores de isoflavonas, proteínas, óleo e qualidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p. 111-127, 2007.

ÁVILA, M. R.; ALBRECHT, L. P. Isoflavonas e a qualidade de sementes de soja. **Informativo Abrates**, v. 20, n. 1, p. 15-29, 2010.

BAHRY, C. A.; ACUNHA, T. S.; FERNANDO, J. A.; CHAVES, F. C.; NARDINHO, M.; ZIMMER, P. D. Chemical composition and structural characterization of contrasting colors of soybean seed coats. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 1913-1926, 2015.

BAHRY, C. A.; PERBONI, A. T.; NARDINO, M.; ZIMMER, P. D. Physiological quality and imbibitions of soybean seeds with contrasting coats. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 125-133, 2017.

BARBOSA, A. C. L.; HASSIMOTTO, N. M. A.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Teores de isoflavonas e capacidade antioxidante da soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 921-926, 2006.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010b.

BELLALOU, N.; SMITH, J. R.; MENGISTU, A. Seed nutrition and quality, seed coat boron and lignin are influenced by delayed harvest in exotically-derived soybean breeding lines under high heat. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1563, p. 01-16, 2017.

BERHOW, M. A. Modern analytical techniques for flavonoid determination. In: BUSLIG, B. S.; MANTHEY, J. A. **Flavonoids in cell function**. New York: Kluwer Academic, 2002. p. 61-76. (Advances in Experimental Medicine and Biology, v. 505).

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3. ed. Springer, 2013. 407 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009, 395 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 45, de 17 de setembro de 2013. Anexo XXIII - **Padrões para produção e comercialização de sementes de soja**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/INN45de17desetembrode2013.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2018.

CAPELETI, I.; BONINI, E. A.; FERRARESE, M. L. L.; TEIXEIRA, A. C. N.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FERRARESE-FILHO, O. Lignin content and peroxidase activity in soybean seed coat susceptible and resistant to mechanical damage. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 27, n. 1, p. 103-108, 2005.

CARDOSO, R. B.; BINOTI, F. F. da S.; CARDOSO, E. D. Potencial fisiológico de sementes de crambe em função das embalagens e armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 272-278, 2012.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; FAVONI, S. P. G.; KIKUCHI, A. Extraction time for isoflavone determination. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 4, p. 515-518, 2002.

CARVALHO, E. R.; MAVAIEIE, D. P. R.; OLIVEIRA, J. A.; CARVALHO, M. V.; VIEIRA, A. R. Alterações isoenzimáticas em sementes de cultivares de soja em diferentes condições de armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 12, p. 967-976, 2014.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira – Grãos, décimo primeiro levantamento**. 2018. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, v. 1, n. 2, p. 427-52, 1973.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FINCH-SAVAGE, W. E.; BASSEL, G. W. Seed vigour and crop establishment:

extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 01-25, 2015.

FORTI, V. A.; CICERO, S. M.; PINTO, T. L. F. Avaliação da evolução de danos por 'umidade' e redução do vigor em sementes de soja, cultivar TMG 113-RR, durante o armazenamento, utilizando imagens de raio X e testes de potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, p. 123-133, 2010.

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. da. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA CNPSo, 1998. 72 p. (Documentos, 116).

FRANÇA NETO, J. de B.; HENNING, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. Tecnologia de produção de sementes. In: **A cultura da soja no Brasil**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 2000.

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; PÁDUA, G. P.; COSTA, N. P.; HENNING, A. A. **Tecnologia da produção de sementes de soja de alta qualidade**. Londrina: EMBRAPA, CNPSo, 12 p., 2007. (Circular técnica, 40).

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. A importância do uso de sementes de soja de alta qualidade. **Informativo Abrates**, v. 20, n. 1, p. 37-38, 2010.

HUTH, C.; MERTZ-HENNING, L. M.; LOPES, S. J.; TABALDI, L. A.; ROSSATO, L. V.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, F. A. Susceptibility to weathering damage and oxidative stress on soybean seeds with different lignin contents in the seed coat. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 4, p. 296-304, 2016.

KAHKONEN, M. P.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 3, p. 628-633, 2003.

KAPOOR, N.; ARYA, A.; SIDDIQUI, M. A.; KUMAR, H.; AMIR, A. Physiology and biochemical changes during seed deterioration in aged seeds of rice (*Oryza sativa* L.). **America Journal of Plant Physiology**, v. 6, n. 1, p. 28-35, 2011.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. de B. Looking at lignin. **Seed Testing Internacional**, n. 155, p. 09-11, 2018.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015, 660 p.

MARWANTO, M.; MARLINDA, M. D. The relationship between seed coat lignin content and seed quality of soybeans during storage. **Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia**, v. 5, n. 1, p. 12-17, 2003.

MENEGHELLO, G. E; PESKE, S. T. A grandeza do negócio de sementes de soja no Brasil. **Seed News**, v. 15, n. 4, p. 24-30, 2013.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; CRUZ, H. L.; MENEGHELLO, G. E.; FERRARI, C. S.; ZIMMER, P. D. Diferenças estruturais entre tegumentos de sementes de soja com permeabilidade contrastante. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 23-29, 2009.

MOREANO, T. B.; BRACCINI, A. de L.; SCAPIM, C. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. de B.; MARQUES, O. J. Changes in the effects of weathering and mechanical damage on soybean seed during storage. **Seed Science and Technology**, v. 39, n. 3, p. 604-611, 2011.

MOREIRA-VILAR, F. C.; SIQUEIRA-SOARES, R. de C.; FINGER-TEIXEIRA, A.; OLIVEIRA, D. M.; FERRO, A. P.; ROCHA, G. J.; FERRARESE, M. L. L.; SANTOS, W. D.; FERRARESE-FILHO, O. The acetyl bromide method is faster, simpler and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues than Klason and thioglycolic acid methods. **Plos One**, v. 9, n. 10, p. 1-7, 2014.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. de B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-2.24.

PESKE, S. T. Investindo em empresas de sementes. **Seed News**, n. 2, 2018.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1977. 289 p.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna, Áustria: R Foundation for Statistical Computing, 2018. Disponível em: <<https://www.r-project.org>>. Acesso em: 20 de junho de 2018.

ROSA, D. P.; NOBRE, D. A. C.; OLIVEIRA, D. S.; SILVA, F. C. S.; BEZERRA, A. R. G.; SILVA, A. F.; SEDIYAMA, T. Genetic diversity in soybean seed quality under different storage conditions. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 1, p. 57-72, 2017.

SAKTHIVELU, G.; DEVI, M. K. A.; GIRIDHAR, P.; RAJASEKARAN, T.; RAVISHANKAR, G. A.; NIKOLOVA, M. T.; ANGELOY, G. B.; TODOROVA, A. G. B.; KOSTURKOVA, G. P. Isoflavone composition, phenol content, and antioxidante activity of soybean seeds from India and Bulgaria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 6, p. 2090-2095, 2008.

SERKEDJIEVA, J. Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. In: GUPTA, S. D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2011. Chap.13, p. 275-293.

SHABAN, M. Review on physiological aspects of seed deterioration. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 6, n. 11, p. 627-631, 2013.

SLAVIN, M.; KENWORTHY, W.; YU, L. L. Antioxidant properties, phytochemical composition, and antiproliferative activity of Maryland-grown soybeans with colored seed coats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 23, p. 11174-11185, 2009.

SMANIOTTO, T. A. de S.; RESENDE, O.; MARÇAL, K. A. F.; OLIVEIRA, D. E. C.; SIMON, G. A. Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 4, p. 446-453, 2014.

TEEKACHUNHATEAN, S.; HANPRASERTPONG, N.; TEEKACHUNHATEAN, T. Factors affecting isoflavone content in soybean seeds grown in Thailand. **International Journal of Agronomy**, p. 01-12, 2013.

TERASAWA, J. M.; PANOBIANCO, M.; POSSAMAI, E.; KOEHLER, H. S. Antecipação da colheita na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Bragantia**, v. 68, n. 3, p. 765-773, 2009.

VIDIGAL, D. S.; WILLEMS, L.; ARKEL, J. V.; DEKKERS, B. J. W.; HILHORST, H. W. M.; BENTSINK, L. Galactinol as marker for seed longevity. **Plant Science**, v. 246, p. 112-118, 2016.

VOGT, T. Phenylpropanoid Biosynthesis. **Molecular Plant**, v. 3, n. 1, p. 2-20, 2010.

ZABALA, G.; VODKIN, L. O. Methylation affects transposition and splicing of a large CACTA transposon from a myb transcription factor regulating anthocyanin synthase genes in soybean seed coats. **Plos One**, v. 9, n. 11, p. 1-20, 2014.

ZHAO, Q.; DIXON, R. A. Transcriptional networks for lignin biosynthesis: more complex than we thought? **Trends Plants Science**, v. 16, p. 227-233, 2011.

4 ARTIGO B – ABSORÇÃO DE ÁGUA E TOLERÂNCIA AO ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE SOJA COM CARACTERÍSTICAS CONTRASTANTES DE TEGUMENTO

4.1 RESUMO

Características do tegumento podem estar relacionadas à qualidade e a longevidade de sementes, atraindo o interesse dos programas de melhoramento genético. Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar a relação entre os parâmetros de absorção de água e a tolerância ao armazenamento de sementes de cultivares de soja com características contrastantes de tegumento. Para tanto, foram utilizadas sementes de cinco cultivares de soja com diferentes cores e teores de lignina no tegumento. Antes do armazenamento, determinou-se o teor de lignina no tegumento, o teor de água, a taxa de absorção de água em 11 períodos de hidratação (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 24, 32 e 48 horas), o índice de velocidade de hidratação, a germinação, a viabilidade e o vigor das sementes. Após seis meses de armazenamento em câmara fria (média de 11 °C e 54% de umidade relativa do ar) e em ambiente não controlado (média de 25 °C e 71% de umidade relativa do ar), as sementes foram avaliadas quanto à germinação, a viabilidade e o vigor, a fim de quantificar as alterações na qualidade fisiológica ao longo do armazenamento e relacioná-las com os parâmetros de absorção de água das sementes das diferentes cultivares. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Para a taxa de absorção de água utilizou-se um esquema fatorial 5 x 11 (cultivares x períodos de hidratação). Para as variáveis do desempenho fisiológico foi utilizado esquema fatorial 5 x 2 (cultivares x períodos de armazenamento). Para as demais variáveis realizou-se apenas comparação de média entre as cultivares. O teor de lignina no tegumento correlaciona-se negativamente com os parâmetros de absorção de água pelas sementes. Cultivares de soja apresentam diferentes níveis de tolerância ao armazenamento. Sementes que absorvem maiores quantidades de água possuem menor tolerância à deterioração frente às flutuações na temperatura e UR do ar que ocorrem no armazenamento em ambiente não controlado, afetando negativamente o potencial fisiológico dessas sementes.

Palavras-chave: Deterioração. Embebição. *Glycine max* (L.) Merrill. Lignina. Permeabilidade.

WATER UPTAKE AND STORAGE TOLERANCE OF SOYBEANS SEEDS WITH CONTRASTANTS COAT CHARACTERISTICS

4.2 ABSTRACT

Characteristics of coat may be related to seed quality and longevity, attracting the interest of breeding programs. Therefore, the aim of this work was to evaluate the relation between water uptake parameters and storage tolerance of soybean cultivars seeds with contrasting coat characteristics. For this, seeds of five soybean cultivars with different colors and lignin contents in coat were used. Before storage, it was evaluated the lignin content in seed coat, water content, the rate of water uptake in 11 hydration periods (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 24, 32 and 48 hours), the index of hydration speed, germination, viability and seed vigor. After six months of storage in a cold chamber (average of 11 °C and 54% relative humidity) and in uncontrolled environment (average of 25 °C and 71% relative humidity), the seeds were evaluated regarding as for germination, viability and vigor, in order to quantify the changes in physiological quality throughout the storage and to relate them to the parameters of water uptake of the different cultivars seeds. The experimental design was completely randomized, with four replications. For the water uptake rate, a 5 x 11 factorial scheme (cultivars x hydration periods) was used. For the variables of physiological performance, 5 x 2 factorial scheme (cultivars x storage periods) was used. For the other variables, only the average comparison between the cultivars was used. The lignin content in seed coat correlates negatively with the parameters of water uptake by the seeds. Soybean cultivars show different levels of storage tolerance. Seeds that absorb larger amounts of water have a lower tolerance to deterioration due to fluctuations in air temperature and RH that occur in storage in uncontrolled environment, negatively affecting the physiological potencial of these seeds.

Key words: Deterioration. Soaking. *Glycine max* (L.) Merrill. Lignin. Permeability.

4.3 INTRODUÇÃO

O tegumento da semente desempenha funções de proteção ao eixo embrionário e ao tecido de reserva contra agentes de natureza climática, biótica, ou mecânica, mantém unidas as partes internas da semente, controla a velocidade de hidratação e de trocas gasosas entre a semente e o meio e, também regula a germinação (MARCOS FILHO, 2015; MILLER et al., 2010; RADCHUK; BORISJUK, 2014). Portanto, a qualidade de sementes está diretamente relacionada com as características do tegumento das mesmas, as quais são variáveis entre espécies e entre os genótipos da mesma espécie.

As sementes de soja podem apresentar tegumento permeável, o qual tem como principal característica a facilidade de embebição e, tegumento semipermeável, que restringe, em diferentes níveis, a embebição de água pela semente (HENNING, 2007). A semipermeabilidade do tegumento é uma característica importante no que se refere à suscetibilidade da semente à deterioração no campo e apresenta influência direta no potencial de armazenamento, na resistência ao ataque de pragas e doenças e nos danos mecânicos e por embebição (FRANÇA NETO et al., 2000; SOUZA; MARCOS FILHO, 2001).

A composição química, arranjo estrutural e substâncias intercelulares presentes nas camadas do tegumento irão determinar o grau de permeabilidade do mesmo (QUTOB et al., 2008; SHAO et al., 2007; VU; VELUSAMY; PARK, 2014). Neste contexto, tem se destacado a influência da lignina sobre essa característica (BELLALOUJ; SMITH; MENGISTU, 2017; KUCHLAN; DADLANI; SAMUEL, 2010). França Neto et al. (2000) e Marwanto e Marlinda (2003) relataram que o alto teor de lignina no tegumento confere as sementes menor permeabilidade, tornando-as menos suscetíveis a deterioração. McDougall et al. (1996) mencionaram que a lignina tem ação sobre a velocidade de absorção de água através do tegumento.

Outra característica associada à absorção de água pelas sementes é a cor do tegumento. Asiedu e Powell (1998) e Santos et al. (2007) verificaram que sementes com tegumentos com pigmentação escura apresentaram menor taxa de embebição em relação às sementes com tegumento amarelo. De acordo com

Santos et al. (2007) esse resultado é relacionado aos teores de lignina no tegumento dessas sementes.

A menor velocidade de hidratação das sementes pode atenuar os efeitos da deterioração tanto em condições de campo na pré-colheita, quanto ao longo do armazenamento. Essa hipótese parte do caráter higroscópico das sementes, no qual o seu teor de água está em equilíbrio com a umidade relativa (UR) do ar, sob temperatura específica do ambiente de armazenamento. Assim, sabendo que o ponto de equilíbrio higroscópico varia de acordo com as características dos genótipos, considera-se que sementes que absorvem água com menor intensidade, especialmente nas primeiras horas de embebição, podem apresentar uma maior tolerância frente às flutuações de UR que ocorrem durante o período de armazenamento, contribuindo com a manutenção da qualidade fisiológica das sementes ao longo desse período, principalmente em condições de ambiente não controlado.

O período de armazenamento das sementes de soja varia de seis a oito meses e é uma etapa crucial da cadeia produtiva. No Brasil, as regiões produtoras dessa leguminosa estão em grande parte inseridas em ecossistemas tropicais e subtropicais, nos quais tem se dificuldade para a conservação da germinação e principalmente do vigor das sementes, quando armazenadas em ambientes sem controle de temperatura e UR do ar (FRANÇA NETO, 2016). Além disso, outro fato constatado é a diferença da longevidade de sementes entre cultivares de soja, o que também pode estar relacionado a características de tegumento.

Com isso, informações sobre as características do tegumento e sua relação com a qualidade e a longevidade de sementes estão começando a ser visadas pelos programas de melhoramento no desenvolvimento de novas cultivares de soja. Além disso, essas informações podem ser utilizadas no planejamento para o armazenamento e a comercialização de sementes.

Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a relação entre os parâmetros de absorção de água e a tolerância ao armazenamento de sementes de cultivares de soja com características contrastantes de tegumento.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, no Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Embrapa Soja), nos laboratórios de Química, Fisiologia e Tecnologia de Sementes e Grãos, em Londrina - PR.

Foram utilizadas sementes de cinco cultivares de soja: BRSMG 715A, DM 6563 IPRO, BRS 413 RR, BRS 1003 IPRO e BMX Valente RR, com características contrastantes de cor e teor de lignina no tegumento (Tabela 4.1).

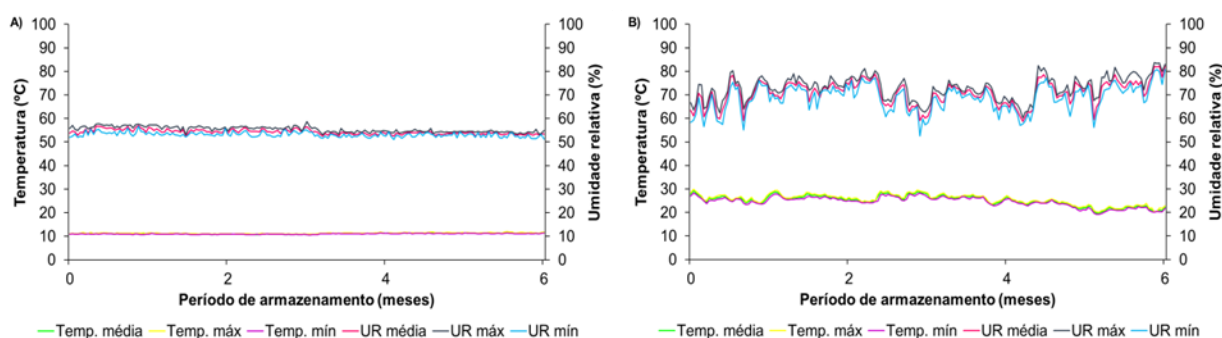
Tabela 4.1 – Caracterização das cultivares de soja utilizadas quanto a cor e ao teor de lignina do tegumento.

ID ¹	Cultivar	Tegumento	
		Cor	Teor de lignina (%)
A	BRSMG 715A	Preto	14,07 a
B	DM 6563 IPRO	Amarelo	4,43 b
C	BRS 413 RR	Amarelo	4,19 b
D	BRS 1003 IPRO	Amarelo	3,80 c
E	BMX Valente RR	Amarelo	3,29 d

¹ ID: sigla utilizada para a identificação das cultivares. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação – teor de lignina: 1,83%.

As sementes foram acondicionadas em embalagens de papel e armazenadas durante um período de seis meses em dois ambientes: câmara fria (sob condições controladas de temperatura e umidade relativa do ar) e ambiente não controlado (sob condições naturais). Durante o experimento foram monitoradas as temperaturas e as umidades relativas (UR) do ar dos dois ambientes, com equipamento Data Logger modelo HT-500 (Figura 4.1).

Figura 4.1 – Temperatura máxima, média e mínima diária (°C) e umidade relativa do ar máxima, média e mínima diária (%) durante o período de armazenamento de sementes de soja em câmara fria (A) e ambiente não controlado (B).



As avaliações relacionadas às características do tegumento e a absorção de água foram realizadas antes do armazenamento, enquanto as avaliações referentes ao desempenho fisiológico foram realizadas no período anterior (zero meses) e aos seis meses de armazenamento. Foram utilizadas as seguintes metodologias:

Teor de lignina no tegumento: foi determinado utilizando-se quatro repetições de 100 sementes, para cada tratamento, as quais foram inicialmente imersas em água por 12 horas. Após esse procedimento, os tegumentos das sementes foram removidos e levados para secagem em estufa a 105 °C por 24 horas. A massa da matéria seca obtida foi triturada e homogeneizada. Posteriormente pesou-se 300 mg de tegumento, as quais foram submetidas a centrifugações (3300 rpm por seis minutos) com diferentes soluções (fosfato de sódio e potássio; triton x-100; NaCl 1,0 M; água deionizada e acetona), para a obtenção da parede celular. Realizado todo esse processo, os tubos com as amostras foram levados a um dessecador com vácuo, e, em seguida levados a estufa a 60 °C. Posterior à secagem das amostras, as mesmas foram maceradas e foi obtido o material livre de proteínas. Após, foi realizada a quantificação da lignina pelo método de brometo de acetila (MOREIRA-VILAR et al., 2014). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Teor de água nas sementes: determinado pelo método da estufa, a 105 °C, utilizando-se quatro repetições para cada tratamento, conforme a metodologia descrita nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Taxa de absorção de água: a absorção de água pelas sementes foi quantificada em 11 períodos de hidratação (1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 24, 32 e 48 horas), sendo utilizadas quatro repetições com 25 sementes por tratamento. Inicialmente, cada amostra foi pesada (massa inicial) em balança com precisão de 0,0001 g e disposta entre duas folhas de papel germitest umedecido com água destilada, no interior de caixas gerbox. Foi utilizada quantidade de água destilada referente a 2,5 vezes a massa seca do papel (BRASIL, 2009). Os gerbox foram acondicionados em germinador com temperatura de 25 °C. Nos tempos pré-determinados foram realizadas pesagens para quantificar o ganho de massa úmida. A cada pesagem as sementes foram retiradas do gerbox, postas sobre papel para remover o excesso de

água externa, pesadas e em seguida retornadas aos gerbox entre papel umedecido e ao germinador.

Ao final de 48 horas, as sementes foram retiradas dos gerbox, pesadas (massa final). Com a massa inicial e final de cada amostra, determinou-se o ganho de massa em porcentagem de água absorvida nas sementes, para cada tempo de embebição, com o uso da fórmula: $GM = (M_f - M_i)/M_i * 100$, em que GM = porcentagem de água absorvida, em relação a massa inicial da amostra, M_i = massa inicial das sementes; M_f = massa final das sementes (cada período de hidratação).

Índice de velocidade de hidratação: de acordo com adaptação de Nakagawa et al. (2007), determinou-se o índice de velocidade de hidratação (IVH), baseando-se na fórmula do índice de velocidade de germinação (IVG), de Popinigis (1977), com a substituição dos dados de germinação pela quantidade de água absorvida e dos dias de avaliação pelos períodos de hidratação.

Teste de germinação: realizado com duas subamostras de 50 sementes por repetição, totalizando 400 sementes por tratamento. As sementes foram distribuídas em rolos de papel germitest, umedecidos com água destilada, na quantidade de 2,5 vezes a massa seca do substrato. Posterior à montagem, os rolos foram acondicionados em germinador sob temperatura de 25 °C. Após oito dias foram realizadas as avaliações conforme as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Teste de tetrazólio: a avaliação foi conduzida com 50 sementes por repetição, pré-condicionadas em papel germitest umedecido com água destilada por um período de 16 horas, em germinador com temperatura constante de 25 °C. Passado este período, as sementes foram transferidas para copos plásticos, com volume de 50 mL, sendo totalmente submersas em solução de tetrazólio (2-3-5 trifenil cloreto de tetrazólio), com concentração de 0,075%, e mantidas à temperatura de 40 °C por aproximadamente 150 e 240 minutos para as sementes de tegumento amarelo e preto, respectivamente. Após o processo de coloração, as sementes foram lavadas com água corrente e mantidas submersas em água até o momento da avaliação. Posteriormente, as sementes foram avaliadas individualmente, seccionando-as longitudinalmente e simetricamente, com o auxílio de lâmina de bisturi e classificadas de acordo com os critérios propostos por França Neto et al. (1998). A viabilidade foi representada pela soma das porcentagens das sementes

pertencentes às classes de 1 a 5, e o nível de vigor, pelas classes de 1 a 3. Os resultados foram expressos em porcentagem.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Para a taxa de absorção de água utilizou-se um esquema fatorial 5 x 11 (cultivares x períodos de hidratação), para as variáveis do desempenho fisiológico, esquema fatorial 5 x 2 (cultivares x períodos de armazenamento) e para as demais variáveis realizou-se apenas comparação de média entre as cultivares. Os dados foram analisados, quanto à normalidade e homocedasticidade, utilizando-se os testes de Shapiro-Wilk e de Hartley, respectivamente, os quais indicaram a não necessidade de transformação. Os ambientes de armazenamento foram analisados separadamente. Foi realizada análise de variância a 5% de probabilidade. As médias das cultivares e períodos de armazenamento foram comparadas pelo teste de Tukey e teste F, respectivamente, e, para os períodos de hidratação foi realizada análise de regressão. As análises foram executadas no programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR (FERREIRA, 2011). Além disso, foi calculado os coeficientes de correlação de Pearson (r) para taxa de absorção de água nos 11 períodos de hidratação e IVH em relação ao teor de lignina e as variáveis de qualidade fisiológica analisadas, a 5% de probabilidade, utilizando o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2018).

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância para as variáveis estudadas é apresentado na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Quadro de análise de variância para absorção de água em sementes (AS), em função de cultivar e período de hidratação; teor de água (TA) e índice de velocidade de hidratação (IVH) de sementes, em função de cultivar; germinação (GER), viabilidade (TZ VIA) e vigor (TZ VIG) pelo teste de tetrazólio em sementes de soja, em função de cultivar e período de armazenamento em dois ambientes.

Quadrados médios						
FV	GL	AS	FV	GL	TA	IVH
Cultivar (C)	4	700,48**	Cultivar	4	0,03 ^{ns}	21,55**
Período de hidratação (PH)	10	13596,00**	Erro	15	0,02	2,84
C x PH	40	16,69**	Média		10,65	16,01
Erro	165	6,03	CV (%)		1,33	10,54
Média		34,58				
CV (%)		7,10				
<i>Câmara fria</i>						
FV	GL	GER	TZ VIA		TZ VIG	
Cultivar (C)	4	18,75 ^{ns}	47,10**		101,40**	
Armazenamento (PA)	1	462,40**	220,90**		950,62**	
C x PA	4	13,15 ^{ns}	10,90 ^{ns}		25,00 ^{ns}	
Erro	30	9,33	7,83		12,72	
Média		90	91		83	
CV (%)		3,41	3,07		4,27	
<i>Ambiente não controlado</i>						
FV	GL	GER	TZ VIA		TZ VIG	
Cultivar (C)	4	58,22**	107,90**		293,25**	
Armazenamento (PA)	1	1199,02**	1102,50**		2873,02**	
C x PA	4	28,27*	29,50**		119,65**	
Erro	30	8,62	6,37		12,92	
Média		87	88		80	
CV (%)		3,36	2,86		4,50	

^{ns}: não significativo e **, * significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Para o teor de água não houve efeito significativo de cultivar (Tabela 4.2), evidenciando a uniformidade do teor de água entre as sementes das cultivares avaliadas (Tabela 4.3), o que é essencial para trabalhos dessa natureza, visto que de acordo com Silva e Villela (2011) o teor de água inicial das sementes interfere no processo de embebição.

Tabela 4.3 – Teor de água e índice de velocidade de hidratação (IVH) em sementes de cinco cultivares de soja, contrastantes quanto à cor e teor de lignina no tegumento.

Cultivar	Teor de água (%)	IVH
A	10,62 a	13,41 a
B	10,77 a	14,50 a
C	10,54 a	15,25 ab
D	10,63 a	18,65 b
E	10,69 a	18,24 b

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

Para a absorção de água nas sementes não foram observadas diferenças significativas entre as cultivares nos períodos de uma e duas horas de hidratação (Tabela 4.4). A partir de três horas de hidratação foi possível distinguir as cultivares quanto à absorção de água, na qual a cultivar A, que possui tegumento preto e maior teor de lignina, absorveu menos água em relação às cultivares D e E, com tegumento amarelo e com os menores teores de lignina (Tabela 4.1; 4.4).

Tabela 4.4 – Absorção de água (%) em sementes de cinco cultivares de soja, submetidas a onze períodos de hidratação.

Cultivar	Períodos de hidratação (horas)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	24	32	48
A	6,4a	9,8a	12,6a	16,2a	19,5a	21,9a	23,9a	26,4a	54,6a	65,9ab	80,7a
B	7,4a	11,3a	14,4ab	17,5a	20,1a	22,7a	24,6a	27,4a	54,2a	62,9a	80,4a
C	7,7a	11,6a	14,9ab	17,9a	21,1a	24,1a	26,6a	29,3a	58,7ab	67,9b	88,5b
D	9,7a	14,2a	18,8b	22,3b	26,2b	29,8b	33,3b	36,1b	67,1c	78,7c	97,1c
E	9,4a	14,0a	18,9b	22,4b	26,0b	29,8b	32,2b	35,6b	63,0bc	74,9c	93,4c

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

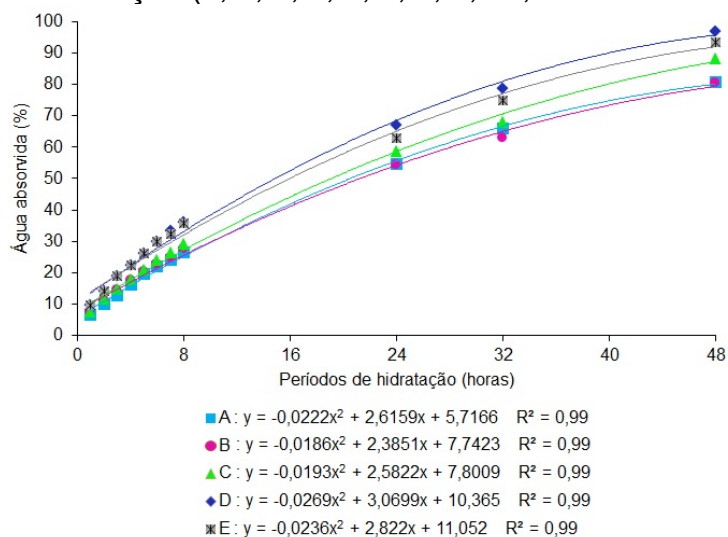
Nos períodos de quatro, cinco, seis, sete e oito horas de hidratação verificou-se que as cultivares A, B e C absorveram menores quantidades de água (Tabela 4.4). Essa diferença entre a absorção de água pelos genótipos, nas primeiras horas de hidratação, possivelmente está relacionada à permeabilidade do tegumento das sementes. De acordo com McDonald et al. (1988) e Marcos Filho (2015) o tegumento de sementes de soja regula a absorção de água nas primeiras horas de embebição e, após esse período, facilita a transferência de água para as partes internas da semente.

As 24, 32 e 48 horas de hidratação constatou-se maiores valores de absorção de água nas cultivares D e E, mantendo o comportamento já observado a partir de quatro horas de hidratação (Tabela 4.4). Resultados similares quanto as diferenças na velocidade e na capacidade total de absorção de água entre cultivares de soja foram observados por Costa et al. (2002). Contudo esses autores não investigaram quais são as características das sementes que podem estar relacionadas com a diferença de comportamento entre as cultivares.

Ao longo dos períodos de hidratação, observou-se que as cultivares D e E, as quais apresentam os menores teores de lignina no tegumento (Tabela 4.1), absorveram as maiores quantidades de água, com 97,1 e 93,4% de incremento em relação a sua massa inicial, respectivamente (Figura 4.2). Essas cultivares (D e

E) também apresentaram maiores índices de velocidade de hidratação (IVH) em relação às cultivares A e B (Tabela 4.3).

Figura 4.2 – Absorção de água (%) em sementes de cinco cultivares de soja (A, B, C, D e E) contrastantes quanto à cor e teor de lignina no tegumento, submetidas a onze períodos de hidratação (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 24, 32 e 48 horas).



Os dados de absorção de água e IVH correlacionaram-se significativamente e de forma negativa com os teores de lignina no tegumento (Tabela 4.5). Essa associação elucida os resultados observados, uma vez que as maiores porcentagens de água absorvida e IVH foram verificadas nas cultivares D e E, as quais apresentam os menores teores de lignina no tegumento (Tabela 4.1).

A lignina é um dos metabólitos secundários mais importantes produzidos pela via dos fenilpropanóides, devido suas diversas funções biológicas (LIU; LUO; ZHENG, 2018). Dentre essas funções, em virtude do seu caráter hidrofóbico, atua diretamente na permeabilidade do tegumento das sementes (ZHAO; DIXON, 2011), o que fundamenta os resultados encontrados nesse trabalho.

Tabela 4.5 – Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os resultados de taxa de absorção de água nos 11 períodos de hidratação e índice de velocidade de hidratação com o teor de lignina e as variáveis de qualidade fisiológica, de sementes de cinco cultivares de soja avaliadas após seis meses de armazenamento em câmara fria e em ambiente não controlado.

	LIGNINA	GER CF ¹	TZ VIA CF	TZ VIG CF	GER NC	TZ VIA NC	TZ VIG NC
A1	-0,57*	-0,50*	-0,02 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,43*	-0,45*	-0,47*
A2	-0,58*	-0,47*	-0,06 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,45*	-0,47*	-0,51*
A3	-0,57*	-0,50*	-0,03 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,43*	-0,46*	-0,50*
A4	-0,51*	-0,52*	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	-0,42 ^{ns}	-0,44*	-0,48*
A5	-0,48*	-0,50*	0,02 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,45*	-0,40 ^{ns}	-0,47*
A6	-0,48*	-0,46*	0,02 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,42 ^{ns}	-0,39 ^{ns}	-0,45*
A7	-0,49*	-0,43*	0,02 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,49*	-0,40 ^{ns}	-0,49*
A8	-0,52*	-0,50*	0,01 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,47*	-0,44*	-0,50*
A24	-0,51*	-0,36 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,71*	-0,47*	-0,59*
A32	-0,40 ^{ns}	-0,45*	0,02 ^{ns}	0,23 ^{ns}	-0,57*	-0,36 ^{ns}	-0,49*
A48	-0,59*	-0,45*	-0,04 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,55*	-0,41 ^{ns}	-0,49*
IVH	-0,56*	-0,50*	-0,02 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,47*	-0,46*	-0,51*

^{ns} correlação não significativa e *significativa a 5% de probabilidade.

¹ Dados das variáveis germinação (GER), viabilidade (TZ VIA) e vigor (TZ VIG) de sementes, referentes ao período de seis meses de armazenamento em câmara fria (CF) e em ambiente não controlado (NC).

A1, A2,..., A48: absorção de água no período de 1, 2,..., 48 horas de hidratação e IVH: índice de velocidade de hidratação.

Apesar da correlação entre absorção de água e lignina ter sido significativa, destaca-se que os coeficientes de correlação (r) foram em média de 0,52, os quais representam uma dependência moderada (MUKAKA, 2012). Com isso, ressalta-se que além do teor de lignina, existem outros fatores que interferem na permeabilidade do tegumento e, conseqüentemente, na capacidade e velocidade de absorção de água pelas sementes. Este fato também auxilia no entendimento da similaridade estatística observada, principalmente nas primeiras horas de hidratação, entre os valores de absorção de água nas sementes da cultivar A, a qual possui tegumento preto e alto teor de lignina, com as cultivares B e C, que apresentam tegumento amarelo e teores medianos de lignina (Tabela 4.1; 4.4).

Neste contexto, o grau de permeabilidade das sementes também tem sido relacionado à estrutura e a compostos presentes no tegumento, como a espessura do parênquima lacunoso (CAVARIANI et al., 2009), conformação dos osteoesclerídeos (LUAN et al., 2017), presença de fissuras na cutícula (MA et al., 2004; RANATHUNGE et al., 2010; VU; VELUSAMY; PARK, 2014), número e formato de poros (CHACHALIS; SMITH, 2001), teores de cutina, cera e suberina (BEWLEY et al., 2013; SHAO et al., 2007), entre outros.

Em relação ao potencial fisiológico das sementes verificaram-se comportamentos distintos dos fatores avaliados em função dos ambientes de

armazenamento. Em câmara fria, constatou-se efeito isolado de cultivar para viabilidade e vigor e, efeito isolado de período de armazenamento para germinação, viabilidade e vigor (Tabela 4.2).

Para germinação, no armazenamento das sementes em câmara fria, foi observado redução no número de plântulas normais aos seis meses de armazenamento (Tabela 4.6).

Tabela 4.6 – Germinação (GER), viabilidade (TZ VIA) e vigor (TZ VIG) pelo teste de tetrazólio em sementes de soja, para efeito isolado de período de armazenamento, média de cinco cultivares, e efeito isolado de cultivar, média de dois períodos de armazenamento, em condições de câmara fria.

Período de armazenamento	GER (%)	TZ VIA (%)	TZ VIG (%)
0 meses	93 a	93 a	88 a
6 meses	86 b	89 b	79 b
Cultivar	TZ VIA (%)	TZ VIG (%)	
A	94 a	87 a	
B	88 b	78 b	
C	93 a	87 a	
D	90 ab	83 ab	
E	90 ab	83 ab	

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

Para o teste de tetrazólio, constatou-se reduções de 4 e 9 pontos percentuais na viabilidade e no vigor das sementes, respectivamente, após o período de armazenamento em câmara fria (Tabela 4.6). Ainda neste ambiente de armazenamento, houve efeito isolado de cultivar, no qual as cultivares A e C apresentaram maiores valores de viabilidade e vigor em relação a cultivar B (Tabela 4.6).

No armazenamento em condições não controladas de temperatura e UR do ar, observou-se interação significativa entre cultivar e período de armazenamento para todas as variáveis relacionadas à qualidade fisiológica das sementes (Tabela 4.2). No período anterior ao armazenamento (0 meses) não houve diferença entre as cultivares para todas as variáveis (Tabela 4.7), desta forma as diferenças observadas após o armazenamento das sementes não devem ser atribuídas à sua qualidade inicial.

Tabela 4.7 – Germinação, viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio de sementes de soja, em função de cultivar e período de armazenamento em condições de ambiente não controlado.

Germinação (%)			
Cultivar	Período de armazenamento		Amplitude*
	0 meses	6 meses	
A	92 Aa	86 Ab	6
B	93 Aa	82 Ab	11
C	95 Aa	85 Ab	10
D	91 Aa	75 Bb	16
E	95 Aa	83 Ab	12

TZ Viabilidade (%)			
Cultivar	Período de armazenamento		Amplitude*
	0 meses	6 meses	
A	96 Aa	91 Ab	5
B	91 Aa	79 Cb	12
C	94 Aa	86 ABb	8
D	92 Aa	78 Cb	14
E	94 Aa	81 BCb	13

TZ Vigor (%)			
Cultivar	Período de armazenamento		Amplitude*
	0 meses	6 meses	
A	90 Aa	83 Ab	7
B	85 Aa	66 BCb	19
C	91 Aa	80 Ab	11
D	86 Aa	60 Cb	26
E	90 Aa	68 Bb	22

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

*Amplitude: diferença entre os valores observados aos 0 e 6 meses de armazenamento, dentro da mesma cultivar.

Para germinação, aos seis meses de armazenamento em condições não controladas, verificou-se que a cultivar D apresentou a menor porcentagem de germinação (75%) (Tabela 4.7), diferindo-se das demais. Assim, nas condições desse experimento, as sementes dessa cultivar não poderiam ser comercializadas após seis meses de armazenamento, pois não apresentaram o mínimo de 80% de germinação, conforme preconiza os padrões nacionais para comercialização de sementes dessa espécie (BRASIL, 2013).

Comparando os períodos de armazenamento no ambiente não controlado, constatou-se reduções nos valores de germinação em todas as cultivares (Tabela 4.7). Corroborando esses resultados, El-Abady et al. (2012) também observaram reduções na germinação de sementes de cultivares de soja armazenadas por um período de seis meses em condições ambientais de temperatura e UR não controladas.

Quanto ao teste de tetrazólio, observou-se, aos seis meses de armazenamento em ambiente não controlado, que as sementes da cultivar A apresentaram maior viabilidade em relação às cultivares B, D e E. Para o vigor, as cultivares A e C demonstraram os maiores valores (Tabela 4.7). Em relação ao efeito do período de armazenamento, constataram-se reduções na viabilidade e no vigor pelo teste de tetrazólio para todas as cultivares. Contudo, apesar do armazenamento ter propiciado redução no desempenho fisiológico de todas as cultivares, é importante destacar que essas reduções não foram homogêneas entre as cultivares, o que pode ser verificado nos percentuais de variação calculados e apresentados na Tabela 4.7. A partir desses valores, nota-se que as diferenças foram mais acentuadas para o vigor, com variações de 7% (cultivar A) a 26% (cultivar D), o que ocasionou uma discrepância de 19% entre as cultivares, o que, certamente, as segrega quanto a tolerância ao armazenamento.

Ainda, no ambiente não controlado, é válido destacar que as amplitudes observadas na cultivar A, com tegumento preto e maiores teores de lignina, foram de 6% para germinação e 7% para vigor (Tabela 4.7), as quais são menores que as reduções médias verificadas entre o período de zero e seis meses de armazenamento em câmara fria (Tabela 4.6). Com isso, evidencia-se o desempenho favorável dessa cultivar mesmo em condições não tão adequadas para a conservação do potencial fisiológico de sementes.

Quanto à relação entre as taxas de absorção de água e o desempenho fisiológico das sementes após o armazenamento, constatou-se correlação significativa e negativa entre essas características, sobretudo no ambiente não controlado (Tabela 4.5). Neste ambiente, corroborando os resultados desta análise, verificaram-se maiores reduções na qualidade fisiológica, principalmente no vigor, nas cultivares D e E (Tabela 4.7), as quais apresentaram os maiores valores de absorção de água pelas sementes (Tabela 4.4; Figura 4.2).

Essa associação entre as características de absorção de água e a tolerância ao armazenamento das sementes no ambiente não controlado possivelmente está relacionada às condições de UR e temperatura do ar presentes nesse ambiente e ao caráter higroscópico das sementes. Nesse ambiente, a variação na UR do ar ao longo do período de armazenamento foi de 52 a 84% (Figura 4.1), o que certamente, alterou o metabolismo e contribuiu com o processo de deterioração das sementes em todas as cultivares. Entretanto, cultivares que

absorveram maiores quantidades de água tiveram esse processo intensificado, em virtude da menor resistência frente às oscilações de UR, resultando em maiores reduções no desempenho fisiológico após o período de armazenamento.

Ainda, no ambiente de armazenamento não controlado, foi possível observar diferenças na tolerância ao armazenamento entre as cultivares que absorveram menores quantidades de água, com destaque para a maior tolerância nas cultivares A e C (Tabela 4.7).

Desta forma, verifica-se que a absorção de água e a tolerância ao armazenamento das sementes não estão associadas com um fator específico, mas sim por um conjunto de características que podem estar relacionadas à estrutura e a composição química do tegumento ou do embrião das sementes. Assim, estudos complementares são necessários a fim da identificação e compreensão dos demais fatores relacionados à conservação do potencial fisiológico das sementes.

4.6 CONCLUSÕES

O teor de lignina no tegumento correlaciona-se negativamente com os parâmetros de absorção de água pelas sementes.

Cultivares de soja apresentam diferentes níveis de tolerância ao armazenamento.

Sementes que absorvem maiores quantidades de água possuem menor tolerância a deterioração frente às flutuações na temperatura e UR do ar que ocorrem no armazenamento em ambiente não controlado, afetando negativamente o potencial fisiológico dessas sementes.

4.7 REFERÊNCIAS

ASIEDU, E. A.; POWELL, A. A. Comparisons of storage potential of cultivar of cowpea (*Vigna unguiculata*) differing in seed coat pigmentation. **Seed Science and Technology**, v. 26, n. 1, p. 211-221, 1998.

BELLALOUJ, N.; SMITH, J. R.; MENGISTU, A. Seed nutrition and quality, seed coat boron and lignin are influenced by delayed harvest in exotically-derived soybean breeding lines under high heat. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1563, p. 01-16, 2017.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3. ed. Springer, 2013. 407 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009, 395 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 45, de 17 de setembro de 2013. Anexo XXIII - **Padrões para produção e comercialização de sementes de soja**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/INN45de17desetembrode2013.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2018.

CAVARIANI, C.; TOLEDO, M. Z.; RODELLA, R. A.; FRANÇA NETO, J. de B.; NAKAGAWA, J. Velocidade de hidratação em função de características do tegumento de sementes de soja de diferentes cultivares e localidades. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n.1, p. 31-39, 2009.

CHACHALIS, D.; SMITH, M. L. Seed coat regulation of water uptake during imbibition in soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.). **Seed Science & Technology**, n. 29, p. 401-412, 2001.

COSTA, J. A.; PIRES, J. L. F.; THOMAS, A. L.; ALBERTON, M. Variedades de soja diferem na velocidade e capacidade de absorver água. **Scientia Agraria**, v. 3, n. 1-2, p. 91-96, 2002.

EL-ABADY, M. I.; EL-EMAM, A. A. M.; SEADH, S. E.; YOUSOF, F. I. Soybean seed quality as affected by cultivars, threshing methods and storage periods. **Research Journal of Seed Science**, v. 5, n. 4, p. 115-135, 2012.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FRANÇA NETO, J. de B.; KRYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. da. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA CNPSo, 1998. 72 p. (Documentos, 116).

FRANÇA NETO, J. de B.; HENNING, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. Tecnologia de produção de sementes. In: **A cultura da soja no Brasil**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 2000.

FRANÇA NETO, J. de B. Características fisiológicas da semente: germinação, vigor, viabilidade, danos mecânicos tetrazólio, deterioração por umidade tetrazólio e dano por percevejo tetrazólio. In: **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2014/15**. HENNING, A. A.; CORRÊA, D. S.; HENNING, F. A.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; LORINI, I.; FRANÇA NETO, J. de B.; MANDARINO, J. M. G.; OLIVEIRA, M. A.; HIRAKURI, M. H.; LEITE, R. S.; BENASSI, V. T. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 190 p. (Documentos 378).

HENNING, F. A. **Mapeamento de caracteres do tegumento da semente de soja e análise in silico dos marcadores microssatélites**. 2007. 58 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

KUCHLAN, M. K.; DADLANI, M.; SAMUEL, D. V. K. Seed Coat Properties and Longevity of Soybean Seeds. **Journal of New Seeds**, v. 11, p. 239-249, 2010.

LIU, Q.; LUO, L.; ZHENG, L. Lignins: biosynthesis and biological functions in plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 01-16, 2018.

LUAN, Z.; ZHAO, J.; SHAO, D.; ZHOU, D.; ZHANG, L.; ZHENG, W.; SUN, Q. A comparison study of permeable and impermeable seed coats of legume seed crops reveals the permeability related structure difference. **Pakistan Journal of Botany**, v. 49, n. 4, p. 1435-1441, 2017.

MA, F.; CHOLEWA, E.; MOHAMED, T.; PETERSON, C. A.; JZEN, M. G. Cracks in the palisade cuticle of soybean seed coats correlate with their permeability to water. **Annals of Botany**, v. 94, p. 213-228, 2004.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015, 660 p.

MARWANTO, M.; MARLINDA, M. D. The relationship between seed coat lignin content and seed quality of soybeans during storage. **Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia**, v. 5, n. 1, p. 12-17, 2003.

MCDONALD, M. B.; VERTUCCI, C. W.; ROOS, E. E. Seed coat regulation of soybean seed imbibition. **Crop Science**, v. 28, n. 6, p. 987-992, 1988.

MCDUGALL, G. J.; MORRISON, I. M.; STEWART, D.; HILLMAN, J. R. Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 70, n. 2, p. 133-150, 1996.

MILLER, S. S.; ZIN, Z.; SCHNELL, J. A.; ROMERO, M. C.; BROWN, D. C. W.; JOHNSON, D. A. Hourglass cell development in the soybean seed coat. **Annals of Botany**, v. 106, p. 235-242, 2010.

MOREIRA-VILAR, F. C.; SIQUEIRA-SOARES, R. de C.; FINGER-TEIXEIRA, A.; OLIVEIRA, D. M.; FERRO, A. P.; ROCHA, G. J.; FERRARESE, M. L. L.; SANTOS, W. D.; FERRARESE-FILHO, O. The acetyl bromide method is faster, simpler and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues than Klason and thioglycolic acid methods. **Plos One**, v. 9, n. 10, p. 01-7, 2014.

MUKAKA, M. M. Statistics Corner: A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research. **Malawi Medical Journal**, v. 24, n. 3, p. 69-71, 2012.

NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C.; MARTINS, C. C.; COIMBRA, R. A. Intensidade de dormência durante a maturação de sementes de mucuna-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 165-170, 2007.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1977. 289 p.

QUTOB, D.; MA, F.; PETERSON, C. A.; BERNARDS, M. A.; GIJZEN, M. Structural and permeability properties of the soybean seed coat. **Botany**, v. 86, p. 219-227, 2008.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna, Áustria: R Foundation for Statistical Computing, 2018. Disponível em: <https://www.r-project.org>. Acesso em: 20 de junho de 2018.

RADCHUK, V.; BORISJUK, L. Physical, metabolic and developmental functions of the seed coat. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 510, 2014.

RANATHUNGE, K; SHAO, S.; QUTOB, D.; GIJZEN, M.; PETERSON, C. A.; BERNARDS, M. A. Properties of the soybean seed coat cuticle change during development. **Planta**, v. 231, n. 5, p. 1171-1188, 2010.

SANTOS, E. L.; PÓLA, J. N.; BARROS, A. S. R.; PRETE, C. E. C. Qualidade fisiológica e composição química das sementes de soja com variação na cor do tegumento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 20-26, 2007.

SHAO, S.; MEYER, C. J.; MA, F.; PETERSON, C. A.; BERNARDS, M. A. The outermost cuticle of soybean seeds: chemical composition and function during imbibition. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 5, p. 1071-1082, 2007.

SILVA, K. R. G.; VILLELA, F. A. Pré-hidratação e avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 2, p. 331-345, 2011.

SOUZA, F. H. D.; MARCOS FILHO, J. The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n.4. p. 365-375, 2001.

VU, D. T.; VELUSAMY, V.; PARK, E. Structure and chemical composition of wild soybean seed coat related to its permeability. **Pakistan Journal of Botany**, v. 46, n. 5, p. 1847-1857, 2014.

ZHAO, Q.; DIXON, R. A. Transcriptional networks for lignin biosynthesis: more complex than we thought? **Trends Plant Science**, v. 16, p. 227-233, 2011.

5 ARTIGO C – POTENCIAL FISIOLÓGICO E METABOLISMO ANTIOXIDATIVO AO LONGO DO ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE SOJA CONTRASTANTES QUANTO A COMPOSTOS DA ROTA DOS FENILPROPANÓIDES

5.1 RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar as alterações na viabilidade e no vigor de sementes de cultivares de soja durante o armazenamento em dois ambientes, relacionando-as à atividade antioxidativa, a produção de espécie reativa de oxigênio e a metabólitos da rota dos fenilpropanóides. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 5 (períodos de armazenamento x cultivares), com quatro repetições. Foram utilizadas sementes de cinco cultivares de soja com características contrastantes de teor de lignina, cor e presença de antocianina no tegumento e teor de isoflavona na semente, armazenadas durante seis meses em câmara fria (11 °C e 54% de UR) e em ambiente não controlado (média de 25 °C e 71% de UR). Periodicamente, a cada dois meses, as sementes foram avaliadas quanto ao seu desempenho fisiológico (viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio), atividade enzimática (superóxido dismutase e catalase) e conteúdo de peróxido de hidrogênio. O armazenamento em câmara fria mantém a viabilidade inicial das sementes das cultivares A, C e D. Já, o armazenamento em ambiente não controlado reduz a viabilidade das sementes, com taxas de decréscimos variando de 0,61 a 2,13% por mês entre as cultivares. O vigor das sementes é reduzido durante o armazenamento, principalmente em ambiente não controlado. Não há associação entre a qualidade fisiológica das sementes com a atividade da superóxido dismutase e da catalase, avaliadas no tegumento e no embrião. O aumento no conteúdo de peróxido de hidrogênio no tegumento reduz a qualidade fisiológica das sementes armazenadas no ambiente não controlado. A diferença na tolerância a deterioração ao longo do armazenamento de sementes não está relacionada ao teor total de isoflavonas, entretanto associa-se ao teor de lignina no tegumento, principalmente em ambiente com flutuações na temperatura e UR do ar.

Palavras-chave: Catalase. Lignina. Espécie reativa de oxigênio. Superóxido dismutase. Viabilidade.

PHYSIOLOGICAL POTENTIAL AND ANTIOXIDATIVE METABOLISM THROUGHOUT THE STORAGE OF CONTRASTING SOYBEAN SEEDS ABOUT THE COMPOUNDS OF THE PHENYLPROPANOID PATHWAY

5.2 ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the changes in the viability and vigor of soybean cultivars seeds during storage in two environments, relating them to antioxidative activity, the production of reactive oxygen species and to the metabolites of the phenylpropanoids pathway. The experimental design was completely randomized, in a factorial scheme 4 x 5 (storage periods x cultivars), with four replications. Seeds of five soybean cultivars with contrasting characteristics of lignin content, color and presence of anthocyanin in the coat and isoflavone content in the seed were stored for six months in a cold chamber (11 °C and 54% of RH) and uncontrolled environment (average of 25 °C and 71% of RH). Periodically, every two months, the seeds were evaluated for their physiological performance (viability and vigor by tetrazolium test), enzymatic activity (superoxide dismutase and catalase) and hydrogen peroxide content. The cold chamber storage maintain the initial seeds viability of cultivars A, C and D. However, the storage in an uncontrolled environment reduces the viability of the seeds, with rates of decreases ranging from 0.61 to 2.13% per month between cultivars. Seed vigor is reduced during storage, especially in an uncontrolled environment. There is no association between the physiological quality of the seeds with the superoxide dismutase and catalase activity, evaluated in the seed coat and the embryo. The increase in hydrogen peroxide content in the coat reduces the physiological quality of the seeds stored in the uncontrolled environment. The difference in the tolerance to deterioration throughout the storage of seeds is not related to the total isoflavones content, however it is associated to the lignin content in the coat, mainly in the environment with fluctuations in the air temperature and RH.

Key words: Catalase. Lignin. Reactive oxygen species. Superoxide dismutase. Viability.

5.3 INTRODUÇÃO

Na entressafra as sementes de soja são armazenadas por um período que varia de seis a oito meses. Durante esse período a deterioração é inevitável, contudo a extensão das alterações fisiológicas, físicas e bioquímicas que ocorrem neste processo pode ser minimizada, dependendo das condições ambientais de armazenamento e das características das sementes (JYOTI; MALIK, 2013; KAPOOR et al., 2011).

No Brasil, o ambiente de armazenamento assume papel fundamental na definição da qualidade das sementes a serem entregues ao produtor, visto que as regiões produtoras de soja estão em grande parte presentes em regiões tropicais e subtropicais (FRANÇA NETO, 2016). Nestas regiões o armazenamento sob condições ambientais naturais, em virtude das elevadas temperaturas e alta umidade relativa do ar, compromete a manutenção da qualidade das sementes, devido principalmente ao aumento do metabolismo e da formação de radicais livres.

A formação de radicais livres ocorre naturalmente com o envelhecimento das sementes, contudo em situações de estresse, como o armazenamento em condições inadequadas, há maior produção desses compostos. A partir dos radicais livres podem ser geradas as espécies reativas de oxigênio (EROs). As principais EROs são o ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil (OH), todas essas formas podem causar danos as células (BHATTACHARJEE, 2012; D'AUTRÉAUX; TOLEDANO, 2007).

Para a proteção contra os efeitos das EROs, as sementes apresentam sistemas de defesa antioxidantes, os quais podem ser enzimáticos ou não enzimáticos (DAVAR; DARVISHZADEH; MAJD, 2013). Tais sistemas têm a função de inibir e/ou reduzir os danos causados as células, através de mecanismos que evitem a formação de radicais livres ou que promovam o sequestro ou a degradação dessas moléculas (BARBOSA et al., 2010a; HAJIBOLAND, 2014).

Dentre os sistemas enzimáticos, destacam-se as enzimas superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT). A SOD está presente em todos os organismos aeróbicos e é uma das enzimas antioxidantes mais eficazes. Esta enzima fornece a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos das EROs, catalisando a dismutação de dois radicais O_2^- , na qual um O_2^- é reduzido a H_2O_2 e

outro oxidado a O_2 (DINAKAR; DJILIANOV; BARTELS, 2012; GILL; TUTEJA, 2010). Já, a CAT possui um mecanismo eficiente para remover o H_2O_2 formado nas células sob condições de estresse. Esta metaboliza o H_2O_2 em H_2O e O_2 (LEUNG, 2018).

As enzimas antioxidativas desempenham importante papel durante o armazenamento das sementes (HOSAMANI et al., 2013), contudo, segundo Copeland e McDonald (2001), com a evolução do processo deteriorativo essas enzimas tornam-se menos eficientes para exercer a sua atividade catalítica. Desta forma, as alterações na atividade enzimática podem ser um indicativo de redução do potencial fisiológico das sementes.

Nesse contexto, Carvalho et al. (2014) ao avaliarem seis cultivares de soja, observaram que em condições não controladas de armazenamento a atividade da SOD e a qualidade fisiológica das sementes reduziram após seis meses de armazenamento, enquanto nas sementes armazenadas em câmara fria ($10\text{ }^\circ\text{C}$ e 50% UR) esse comportamento não foi observado.

Além das condições de armazenamento, tem-se relatado que cultivares de soja apresentam respostas diferenciadas quanto à qualidade e a longevidade de sementes, o que pode estar relacionado à maior ou menor atividade dos sistemas enzimáticos de defesa e/ou devido a compostos presentes nas sementes, como metabólitos oriundos da rota dos fenilpropanóides.

A rota dos fenilpropanóides apresenta a fenilalanina como substrato principal e inclui uma série de caminhos bioquímicos, os quais pela ação de diversas enzimas se ramificam gerando vários compostos, incluindo a lignina, a antocianina e as isoflavonas (LIU; OSBOURN; MA, 2015; ROCK, 2017; VOGT, 2010).

A lignina presente no tegumento das sementes de soja tem sido relacionada à qualidade física e fisiológica das sementes, principalmente devido a sua correlação positiva com a resistência das sementes a danos mecânicos (CARBONELL; KRZYNOWSKI, 1995; CAPELETI et al., 2005; KUCHLAN et al., 2018) e a deterioração por umidade em pré-colheita (CASTRO et al., 2016; HUTH et al., 2016). Já a isoflavona e a antocianina (pigmento responsável pela coloração preta em tegumentos de sementes de soja) podem ser relacionadas à qualidade das sementes principalmente devido ao seu potencial antioxidante (BURSAĆ et al., 2017; KIM et al., 2012; MUJIC et al., 2011; SEO et al., 2017), os quais, juntamente com o sistema de defesa enzimático, podem contribuir com a maior tolerância das sementes ao armazenamento. Contudo, estudos desses metabólitos relacionados à

conservação do potencial fisiológico das sementes durante o armazenamento ainda são escassos.

Desta forma, visando contribuir com o melhor entendimento dos fatores que afetam o processo de deterioração das sementes, objetivou-se, neste trabalho, avaliar as alterações na viabilidade e no vigor de sementes de cultivares de soja, durante o armazenamento em dois ambientes, relacionando-as à atividade antioxidativa, a produção de espécie reativa de oxigênio e a metabólitos da rota dos fenilpropanóides.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, no Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Embrapa Soja), nos laboratórios de Fisiologia e Tecnologia, Patologia e Química de Sementes e Grãos, e de Análises Físico-químicas e Cromatográficas, em Londrina – PR.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 5, com quatro repetições. Os fatores foram constituídos por quatro períodos de armazenamento (zero, dois, quatro e seis meses) e por cinco cultivares de soja, as quais apresentam características contrastantes de teor de lignina, cor e presença de antocianina no tegumento e teor de isoflavona nas sementes (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 – Caracterização das cultivares utilizadas quanto aos metabólitos da via dos fenilpropanóides (cor, antocianina e teor de lignina no tegumento e teor de isoflavona em sementes).

ID ¹	Cultivar	Tegumento			Semente
		Cor	Antocianina	Teor de lignina (%)	Teor de isoflavona (mg 100 g de farinha ⁻¹)
A	BRSMG 715A	Preto	+	14,38 a	332,78 a
B	DM 6563 IPRO	Amarelo	-	4,43 b	301,37 b
C	BRS 413 RR	Amarelo	-	4,19 c	233,74 c
D	BRS 1003 IPRO	Amarelo	-	3,80 d	237,69 c
E	BMX Valente RR	Amarelo	-	3,29 e	173,89 d

¹ ID: sigla utilizada para a identificação das cultivares. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação – teor de lignina: 1,34% e teor de isoflavona: 3,79%.

O teor de lignina no tegumento, utilizado para caracterizar as cultivares juntamente com a coloração do tegumento (presença de antocianina) e teor de isoflavona, foi determinado utilizando-se quatro repetições de 100 sementes,

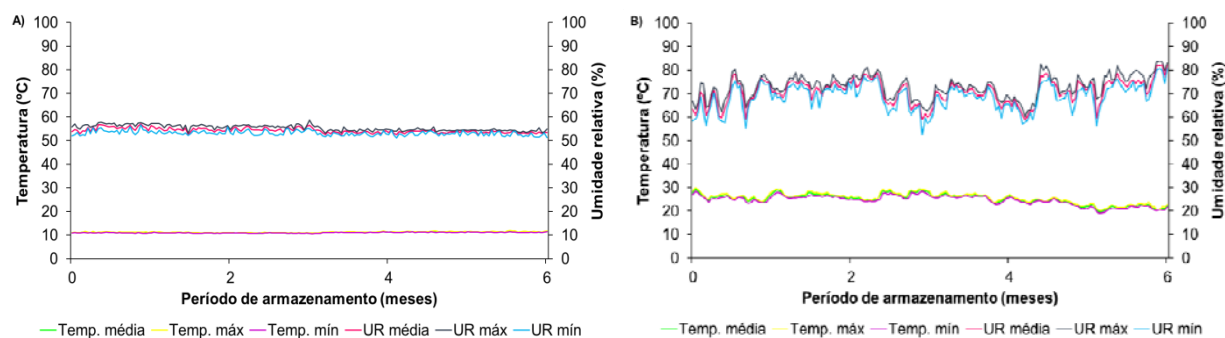
para cada tratamento, as quais foram inicialmente imersas em água por 12 horas. Após esse procedimento, os tegumentos das sementes foram removidos e levados para secagem em estufa a 105 °C por 24 horas. A massa da matéria seca obtida foi triturada e homogeneizada. Posteriormente pesou-se 300 mg de tegumento, as quais foram submetidas a centrifugações (3300 rpm por seis minutos) com diferentes soluções (fosfato de sódio e potássio; triton x-100; NaCl 1,0 M; água deionizada e acetona), para a obtenção da parede celular. Realizado esse processo, os tubos com as amostras foram levados a um dessecador com vácuo, e, em seguida levados a estufa a 60 °C. Posterior à secagem das amostras, as mesmas foram maceradas e foi obtido o material livre de proteínas. Após, foi realizada a quantificação da lignina pelo método de brometo de acetila (MOREIRA-VILAR et al., 2014). Os resultados foram expressos em porcentagem.

O teor de isoflavona foi determinado utilizando-se quatro repetições. A extração das isoflavonas foi realizada de acordo com a metodologia de Carrão-Panizzi, Favoni e Kikuchi (2002), na qual as sementes foram trituradas e desengorduradas com hexano, com agitação constante por 16 horas. Em seguida, as amostras foram filtradas sob vácuo. Após, o material retido no filtro foi mantido em temperatura ambiente por 4 horas, para evaporação do hexano residual. Posteriormente, 100 mg de cada amostra triturada e desengordurada foram transferidas para tubos de ensaio de 10 mL. Em seguida, foram adicionados 4 mL de solução de etanol 70%, contendo 0,1% de ácido acético. Os tubos contendo as amostras e a solução extratora foram homogeneizados a cada 15 minutos, durante 1 hora, em agitador do tipo “vortex”. Após a homogeneização, os tubos contendo as amostras foram ultrassonificados por 30 minutos e, posteriormente, transferiu-se o sobrenadante (1,5 mL do extrato) para tubos tipo eppendorfs. Esses foram centrifugados por 15 minutos, a 14000 rpm, a 4 °C. O sobrenadante foi filtrado através de membrana com poros de 0,45 µm, sendo utilizado 20 µL do extrato filtrado para injeção no cromatógrafo líquido de ultra pressão (UPLC). A quantificação das isoflavonas foi realizada de acordo com modificações na metodologia preconizada por Berhow (2002), em cromatógrafo líquido equipado com coluna de fase reversa do tipo ACQUITY UPLC BEH C18 1,7 µm, diâmetro 50 x 2,1 mm e auto-injetor de amostras. Para a separação das isoflavonas, adotou-se o sistema de gradiente linear binário, tendo-se como fases móveis: 1) metanol contendo 0,025% ácido trifluoroacético (TFA) (solvente A) e 2) água ultrapura

contendo 0,025% de TFA (solvente B). A condição inicial do gradiente foi de 25% para o solvente A e 75% para o solvente B, que, aos 7 minutos, atingiu a concentração de 52% (solvente A) e 48% (solvente B) para, em seguida, subir a 100% (solvente A) e após retornar a 25% (solvente A) e 75% (solvente B), os quais permaneceram nessas condições até os 10 minutos e a finalização da corrida cromatográfica. Após a corrida, com os valores das áreas integradas de cada pico, massas iniciais, volume de extração e de injeção, e utilizando os fatores de calibração gerados na calibração, converteu-se as áreas em teores de isoflavona. Os resultados foram expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de farinha.

As sementes foram acondicionadas em embalagens de papel e armazenadas durante um período de seis meses em dois ambientes: câmara fria (sob condições controladas de temperatura e umidade relativa do ar) e ambiente não controlado (sob condições naturais). Durante o experimento foram monitoradas as temperaturas e as umidades relativas (UR) do ar dos dois ambientes, com equipamento Data Logger modelo HT-500 (Figura 5.1).

Figura 5.1 – Temperatura máxima, média e mínima diária ($^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar máxima, média e mínima diária (%) durante o período de armazenamento de sementes de soja em câmara fria (A) e ambiente não controlado (B).



Ao longo do período de armazenamento das sementes (0, 2, 4 e 6 meses) realizaram-se as seguintes avaliações:

Teste de tetrazólio: a avaliação foi conduzida com 50 sementes por repetição, pré-condicionadas em papel germitest umedecido com água destilada por um período de 16 horas, em germinador com temperatura constante de 25°C . Passado este período, as sementes foram transferidas para copos plásticos, com volume de 50 mL, sendo totalmente submersas em solução de tetrazólio (2-3-5 trifenil cloreto de tetrazólio), com concentração de 0,075%, e mantidas à temperatura

de 40 °C por aproximadamente 150 e 240 minutos para as sementes de tegumento amarelo e preto, respectivamente. Após o processo de coloração, as sementes foram lavadas com água corrente e mantidas submersas em água até o momento da avaliação. Posteriormente, as sementes foram avaliadas individualmente, seccionando-as longitudinalmente e simetricamente, com o auxílio de lâmina de bisturi e classificadas de acordo com os critérios propostos por França Neto et al. (1998). A viabilidade foi representada pela soma das porcentagens das sementes pertencentes às classes de 1 a 5, o nível de vigor, pelas classes de 1 a 3, e a perda de viabilidade, pelas classes de 6 a 8. Os resultados foram expressos em porcentagem.

A determinação da atividade enzimática e do peróxido de hidrogênio foi realizada separadamente no tegumento e no embrião (cotilédone + eixo embrionário) das sementes de soja, exceto o peróxido de hidrogênio no tegumento da cultivar A, devido interferência da coloração das sementes na quantificação. Os tecidos foram macerados em almofariz na presença de nitrogênio líquido. Após, foram armazenados em ultrafreezer, a temperatura de -80 °C, até o momento das análises.

Para a quantificação da atividade das enzimas antioxidativas, superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), procedeu-se a seguinte sequência:

1) *Extração enzimática*: Cerca de 100 mg de tecido macerado foi transferido para tubos do tipo eppendorf. Após, acrescentou-se 1,2 mL de tampão de extração (100 mM de tampão fosfato de potássio – pH 7,5, 0,1 mM de ácido etilenodiaminotetracético – EDTA e 1% de polivilpirrolidona – PVPP). O homogeneizado foi centrifugado a 15000 g, a 4 °C, por 20 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi estocado em alíquotas separadas, a -80 °C, para a determinação das proteínas totais e das enzimas antioxidantes. Todo o processo foi realizado em gelo e nitrogênio líquido.

2) *Determinação das proteínas totais*: determinado pelo método de Bradford (1976), utilizando BSA (Albumina de Soro Bovino) como padrão. Utilizou-se 0,05 mL do extrato de tegumento e 0,025 mL de embrião. Para a quantificação foram adicionados 5 mL de reativo de Bradford e as amostras foram deixadas em repouso durante 15 minutos, posteriormente foram realizadas as leituras no espectrofotômetro a 595 nm.

3) *Atividade da SOD*: determinada pela adição de diversas soluções na seguinte ordem: 1 mL de fosfato de potássio 50 mM – pH 7,8, 0,4 mL de metionina 14 mM, 0,020 mL de EDTA 0,1 μ M, 0,31 mL de água milli q, 0,15 mL de azul de nitrotetrazólio – NBT 75 μ M, 0,1 mL de extrato enzimático (amostra) e por fim, 0,06 mL de riboflavina 2 μ M, conforme Krüger et al. (2017), com alterações. A reação foi conduzida sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W, mantida no interior de uma caixa. Após 15 minutos de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana, produzida pela fotorredução do NBT, foi medida em espectrofotômetro pela leitura da absorbância em 560 nm. O branco foi obtido nas mesmas condições, porém na ausência de luz. O controle foi constituído por todas as soluções, exceto a amostra e mantido na luz. Uma unidade de SOD (U SOD) foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT. Os resultados foram expressos em U SOD mg de proteína⁻¹.

4) *Atividade da CAT*: determinada conforme proposto por Azevedo et al. (1998), com pequenas modificações. Inicialmente preparou-se uma solução onde foi diluído 0,5 mL de H₂O₂ 30% em 200 mL de tampão de fosfato de potássio a 100 mM pH 7,5. Acrescentou-se, em cada tubo, 1 mL desta solução e, em seguida, a reação foi iniciada pela adição de 0,1 mL de extrato enzimático (amostra). Todo esse processo foi realizado com o mínimo de iluminação e com os tubos envoltos por papel alumínio. A atividade foi determinada pelo monitoramento da degradação de H₂O₂, anotando-se os valores da absorbância no tempo zero, logo após inserir a cubeta no espectrofotômetro, e após 1 minuto. As leituras foram realizadas a 240 nm. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 36 M⁻¹ cm⁻¹ (ANDERSON; PRASAD; STEWART, 1995). Os resultados foram expressos em μ mol de H₂O₂ min⁻¹ mg de proteína⁻¹.

Peróxido de hidrogênio (H₂O₂): quantificado através do método descrito por Alexieva et al. (2001). Aproximadamente 100 mg de tecido previamente macerado foi transferido para tubos do tipo eppendorf. Após, acrescentou-se 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. Em seguida, realizou-se a centrifugação das amostras a 10000 rpm, a 4 °C, por 15 minutos. Posteriormente, 0,2 mL do sobrenadante foi transferido para outro tubo e acrescido de 0,2 mL de tampão de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 0,8 mL de solução de iodeto de potássio (KI) a 1 M. O branco consistiu na mesma solução, porém substituiu-se os 0,2 mL do sobrenadante amostrado por 0,2 mL de TCA. Os tubos, após breve

homogeneização, foram colocados no gelo e mantidos no escuro por uma hora. Por fim, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 390 nm. As concentrações de H₂O₂ nas amostras foram calculadas com base na curva de calibração preparada com padrões de H₂O₂. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ g tegumento}^{-1}$ e $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ g embrião}^{-1}$.

Os dados foram analisados separadamente para cada ambiente. Nos dados de viabilidade e vigor realizou-se análise de variância, a 5% de probabilidade. As médias das cultivares foram comparadas pelo teste de Tukey e, para os períodos de armazenamento foi realizada análise de regressão. As análises foram executadas por meio do programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR. Para verificar a associação entre pares de parâmetros aferidos no experimento, foram examinados: o diagrama de dispersão; a tendência linear e o coeficiente de correlação de Pearson. Essa análise foi conduzida no SAS/STAT®software, Versão 9.4. Copyright© 2016 SAS Institute Inc.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo do quadro de análise de variância para a interação entre cultivares e períodos de armazenamento e seus respectivos efeitos isolados, para viabilidade e vigor, em ambos os ambientes de armazenamento, são apresentados na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Quadro de análise de variância para as características de qualidade fisiológica em sementes de soja, em função da cultivar e período de armazenamento em dois ambientes.

FV	GL	Quadrados médios			
		Câmara fria		Ambiente não controlado	
		TZ VIA	TZ VIG	TZ VIA	TZ VIG
Cultivar (C)	4	155,01**	292,57**	166,75**	274,67**
Período (P)	3	68,77**	368,73**	384,58**	956,40**
C x P	12	14,11*	33,27*	17,41**	76,94**
Erro	60	6,47	15,26	6,18	11,40
Média (%)		91	83	88	80
CV (%)		2,81	4,71	2,84	4,22

^{ns}: não significativo e **, * significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F. TZ VIA: viabilidade e TZ VIGOR: vigor, ambos avaliados pelo teste de tetrazólio.

Para os dados de qualidade fisiológica é válido destacar que as sementes das cultivares estudadas apresentavam viabilidade e vigor similares no

período anterior ao armazenamento (Tabela 5.3), o que é fundamental para trabalhos dessa natureza, visto que a qualidade inicial das sementes influencia a intensidade e a velocidade de deterioração e, conseqüentemente, o potencial de armazenamento das sementes (TIMÓTEO; MARCOS FILHO, 2013).

Tabela 5.3 – Viabilidade (TZ VIA) e vigor (TZ VIG), avaliados pelo teste de tetrazólio, em sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria e ambiente não controlado.

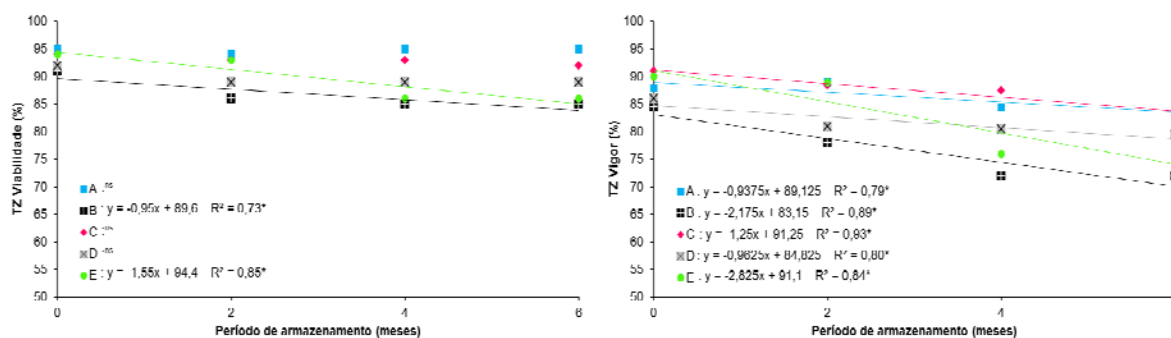
Câmara fria								
Cultivar	TZ VIA (%)				TZ VIG (%)			
	Período de armazenamento (meses)				Período de armazenamento (meses)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
A	95 a	94 a	95 a	95 a	88 a	89 a	85 a	84 a
B	91 a	86 c	85 c	85 c	85 a	78 b	72 c	72 c
C	94 a	93 ab	93 ab	92 ab	91 a	89 a	88 a	83 ab
D	92 a	89 bc	89 bc	89 bc	86 a	81 ab	81 ab	80 abc
E	94 a	93 ab	86 c	86 c	90 a	89 a	76 bc	76 bc
Ambiente não controlado								
Cultivar	TZ VIA (%)				TZ VIG (%)			
	Período de armazenamento (meses)				Período de armazenamento (meses)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
A	95 a	92 a	91 a	91 a	88 a	84 a	82 a	84 a
B	91 a	88 ab	83 b	79 c	85 a	84 a	77 ab	66 bc
C	94 a	92 a	86 b	86 b	91 a	84 a	80 ab	80 a
D	92 a	84 b	84 b	78 c	86 a	77 b	75 b	60 c
E	94 a	87 b	85 b	81 c	90 a	85 a	78 ab	68 b

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

No ambiente câmara fria, a partir de dois meses de armazenamento já foi possível diferenciar as cultivares quanto à viabilidade, sendo que aos quatro e aos seis meses a cultivar A apresentou maiores valores em relação às cultivares B, D e E (Tabela 5.3). Ainda, observou-se redução linear na porcentagem de sementes viáveis com o decorrer do período de armazenamento nas cultivares B e E. Nas demais cultivares (A, C e D) não houve diferença significativa na viabilidade ao longo do armazenamento (Figura 5.2).

Figura 5.2 – Viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de câmara fria.

^{ns} e * regressão não significativa e significativa, respectivamente, a 5% de probabilidade.



Quanto ao vigor, em câmara fria, as cultivares que demonstraram os melhores resultados aos dois meses de armazenamento foram as cultivares A, C e E, aos quatro meses as cultivares A, C e D, e, aos seis meses as cultivares A e C, em comparação a cultivar B nos três períodos (Tabela 5.3). Em relação ao efeito do período de armazenamento, observaram-se reduções lineares no vigor para todas as cultivares, contudo menores taxas de decréscimos foram verificadas nas cultivares A, C e D (Figura 5.2).

No ambiente não controlado, a partir de quatro meses de armazenamento a cultivar A, a qual apresenta tegumento preto e maiores teores de lignina e isoflavona, destacou-se perante as demais quanto aos valores de viabilidade (Tabela 5.3). Hosamani et al. (2013) também verificaram maior viabilidade em sementes de soja com tegumento preto em relação as amarelas, após o armazenamento em condições não controladas.

Para o vigor, aos seis meses de armazenamento, as cultivares A e C foram as que apresentaram os maiores valores e, ainda, destaca-se os valores encontrados nas cultivares B (66%), D (60%) e E (68%) (Tabela 5.3). De acordo com a classificação proposta por França Neto et al. (1998) essas sementes possuem vigor médio e não deveriam ser utilizadas como sementes, uma vez que recomenda-se que apenas os lotes de vigor alto ou muito alto devem ser disponibilizados para a semeadura (FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI; PÁDUA, 2017). Tal recomendação baseia-se no fato que sementes de alto vigor propiciam emergência da lavoura mais rápida e uniforme, favorecerem o crescimento da parte aérea e do sistema radicular, conferem maior tolerância a adversidades ambientais e contribuem positivamente

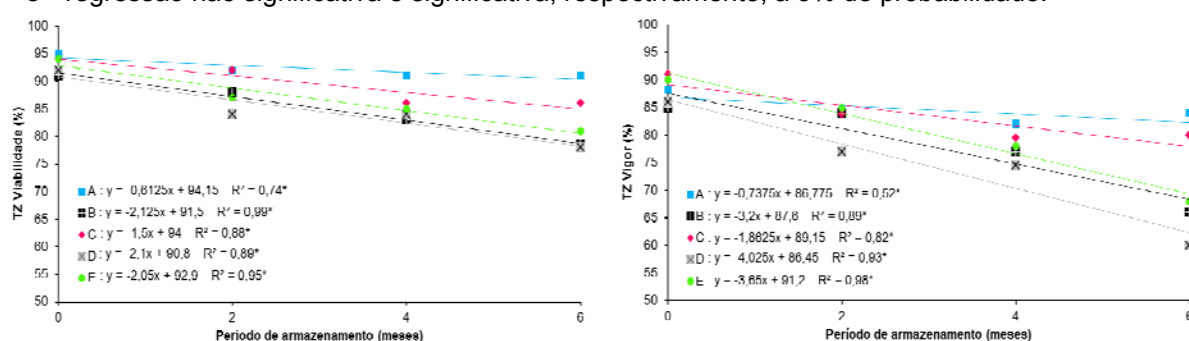
com o potencial produtivo da cultura (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2015; KOLCHINSKI; SCHUCH; PESKE, 2005).

Com o decorrer do período de armazenamento no ambiente não controlado, constataram-se reduções lineares na viabilidade e no vigor para todas as cultivares (Figura 5.3). Entretanto as taxas de decréscimos entre as cultivares foram distintas, sendo estas menos pronunciadas nas cultivares A e C, as quais apresentaram reduções de 0,61 e 0,74 (cultivar A) e 1,50 e 1,86 (cultivar C) pontos percentuais nos valores de viabilidade e vigor, respectivamente, para cada mês de armazenamento. Ainda, para o vigor, destaca-se as acentuadas taxas de decréscimos das cultivares B, D e E (Figura 5.3), as quais modificaram a classificação das sementes de vigor muito alto para vigor médio, conforme mencionado anteriormente. Diferentemente do observado no ambiente câmara fria, em que somente a cultivar B foi classificada como vigor médio após o período de armazenamento (Tabela 5.3).

Barbosa et al. (2010b) também observaram redução no vigor de sementes de soja durante os seis meses de armazenamento com temperatura de 23 °C e UR do ar de 60%.

Figura 5.3 – Viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio de sementes de cultivares de soja ao longo do período de armazenamento em condições de ambiente não controlado.

^{ns} e * regressão não significativa e significativa, respectivamente, a 5% de probabilidade.



Os decréscimos observados na qualidade fisiológica ao longo do armazenamento são devido ao processo natural de deterioração das sementes. No presente trabalho, o ambiente câmara fria propiciou as menores reduções e manteve a viabilidade inicial das sementes em três cultivares, enquanto que em condições não controladas nenhuma cultivar manteve seus valores. Tais resultados estão relacionados ao caráter higroscópico das sementes e aos valores de temperatura e

UR do ar presentes nos dois ambientes, os quais, em câmara fria foram constantes (11 °C e 54% UR) e, em ambiente não controlado apresentaram flutuações (variação de 19,2 a 30 °C e 52 a 84% UR, com média de 25 °C e 71% UR) (Figura 5.1), o que intensificou o processo deteriorativo e reduziu o potencial de armazenamento das sementes acondicionadas neste ambiente.

As relações da atividade enzimática antioxidante, medida através da SOD e da CAT, e do peróxido de hidrogênio com as alterações na qualidade fisiológica das sementes podem ser observadas nos dados em painel apresentados nas figuras 5.4, 5.5 e 5.6.

Quanto a SOD, observou-se correlação significativa somente entre a SOD no tegumento e a viabilidade, para a cultivar C e, o vigor, na cultivar A, ambas no ambiente não controlado (Figura 5.4). A partir dessas, verifica-se que as reduções na viabilidade/vigor de sementes e a atividade dessa enzima ocorreram conjuntamente. Contudo, ressalta-se os valores dos coeficientes de correlações ($r = 0,60$ e $0,51$) visualizados nessas associações (Figura 5.4).

Para a CAT, foi constatada correlação positiva entre a atividade desta enzima no embrião e os valores de viabilidade ($r = 0,65$) e vigor de sementes ($r = 0,50$), especificamente na cultivar A no ambiente não controlado (Figura 5.5). A redução e/ou perda da atividade da catalase pode ser associada ao aumento do acúmulo de peróxido de hidrogênio, uma vez que essa enzima catalisa a decomposição do H_2O_2 em H_2O e O_2 , contudo nesse trabalho não foi possível verificar esse fato. Nas demais cultivares e no tegumento, a perda da viabilidade e do vigor não foi acompanhada por aumento ou decréscimo da CAT, independentemente do ambiente de armazenamento (Figura 5.5).

Ainda, para a SOD e a CAT, constatou-se, na maioria das cultivares, que o acréscimo ou decréscimo na atividade dessas enzimas não segue um padrão com o avanço do período de armazenamento, em ambos os tecidos avaliados e ambientes (Figuras 5.4; 5.5).

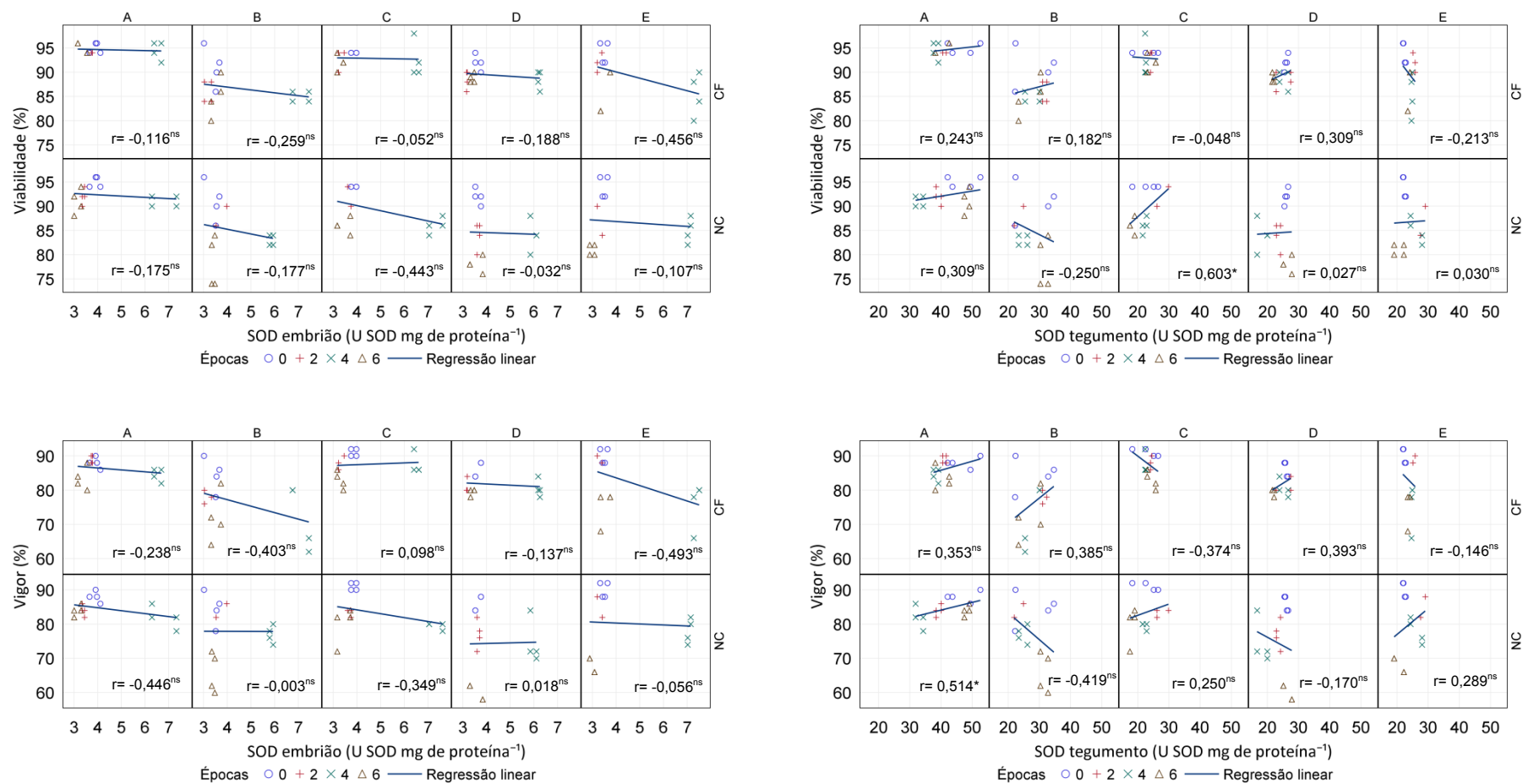


Figura 5.4 – Associação entre a viabilidade e o vigor de sementes com a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), avaliada no embrião e no tegumento das sementes, em cinco cultivares de soja (A, B, C, D e E) ao longo do armazenamento em câmara fria (CF) e em ambiente não controlado (NC).

r: coeficiente de correlação de Pearson. ^{ns} correlação não significativa; ** e * correlação significativa a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.

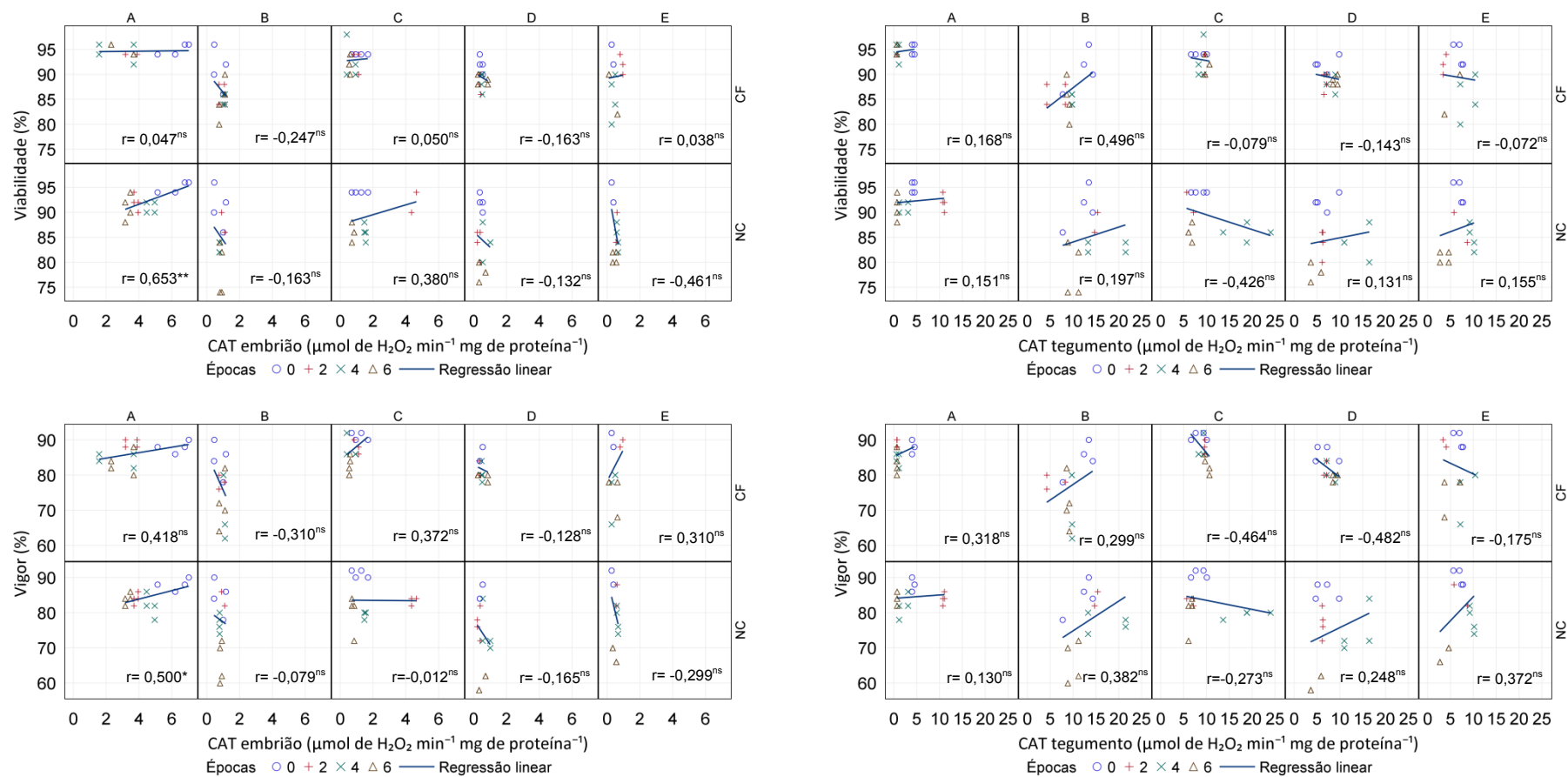


Figura 5.5 – Associação entre a viabilidade e o vigor de sementes com a atividade catalase (CAT), avaliada no embrião e no tegumento das sementes, em cinco cultivares de soja (A, B, C, D e E) ao longo do armazenamento em câmara fria (CF) e em ambiente não controlado (NC).

r: coeficiente de correlação de Pearson. ^{ns} correlação não significativa; ** e * correlação significativa a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.

Diferente do observado neste trabalho, Balešević-Tubić et al. (2005; 2011) verificaram reduções na atividade da SOD ao longo do armazenamento de sementes de girassol e soja, respectivamente. Ainda, Hosamani et al. (2013) verificaram que a atividade da SOD e da CAT aumentou em sementes de cultivares de soja com tegumento preto e reduziu nas com tegumento amarelo, ao final do período de armazenamento em condições não controladas de temperatura e UR do ar. Além disso, esses autores mencionam o importante papel dessas enzimas na determinação do comportamento das cultivares perante o armazenamento, visto a menor redução da viabilidade nas sementes que apresentaram atividade antioxidante superior.

Por outro lado e corroborando os resultados desse trabalho, Moriya et al. (2015) observaram variações nas atividades enzimáticas da SOD e da CAT em cultivares de feijão armazenadas a 15 ± 2 °C e 50% UR, contudo a atividade enzimática, avaliada no eixo embrionário e cotilédone das sementes, não se correlacionou significativamente com os testes de vigor, mesmo em lotes armazenados por até três anos, demonstrando que essas enzimas exerceram pouca influência no processo deteriorativo dessas sementes.

A partir dos resultados, percebe-se a desvinculação da atividade das enzimas SOD e CAT com o processo deteriorativo das sementes das cultivares de soja avaliadas nesse trabalho. Assim, a falta de atuação da SOD e da CAT nas sementes das cultivares que apresentaram melhor manutenção da qualidade fisiológica ao longo do armazenamento, em câmara fria e principalmente no ambiente não controlado, pode estar associada a outros mecanismos de defesa presentes nas sementes, seja agentes antioxidantes enzimáticos ou não enzimáticos, tais como o ácido ascórbico, tocoferol, flavonoides, glutathione redutase, ascorbato peroxidase (BAILLY, 2004; GILL; TUTEJA, 2010; SAISANTHOSH et al., 2018; SATTLER et al., 2004) ou outros compostos sem ação antioxidante.

Para o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), avaliado no embrião das sementes, foram observadas correlações positivas e significativas entre essa ERO e a viabilidade de sementes nas cultivares C e D, no ambiente não controlado. Nesse tecido, também constataram-se correlações positivas entre o conteúdo de H_2O_2 e o vigor de sementes nas cultivares C e D, em ambos os ambiente de armazenamento, e, correlação negativa nas sementes armazenadas em câmara fria da cultivar B (Figura 5.6).

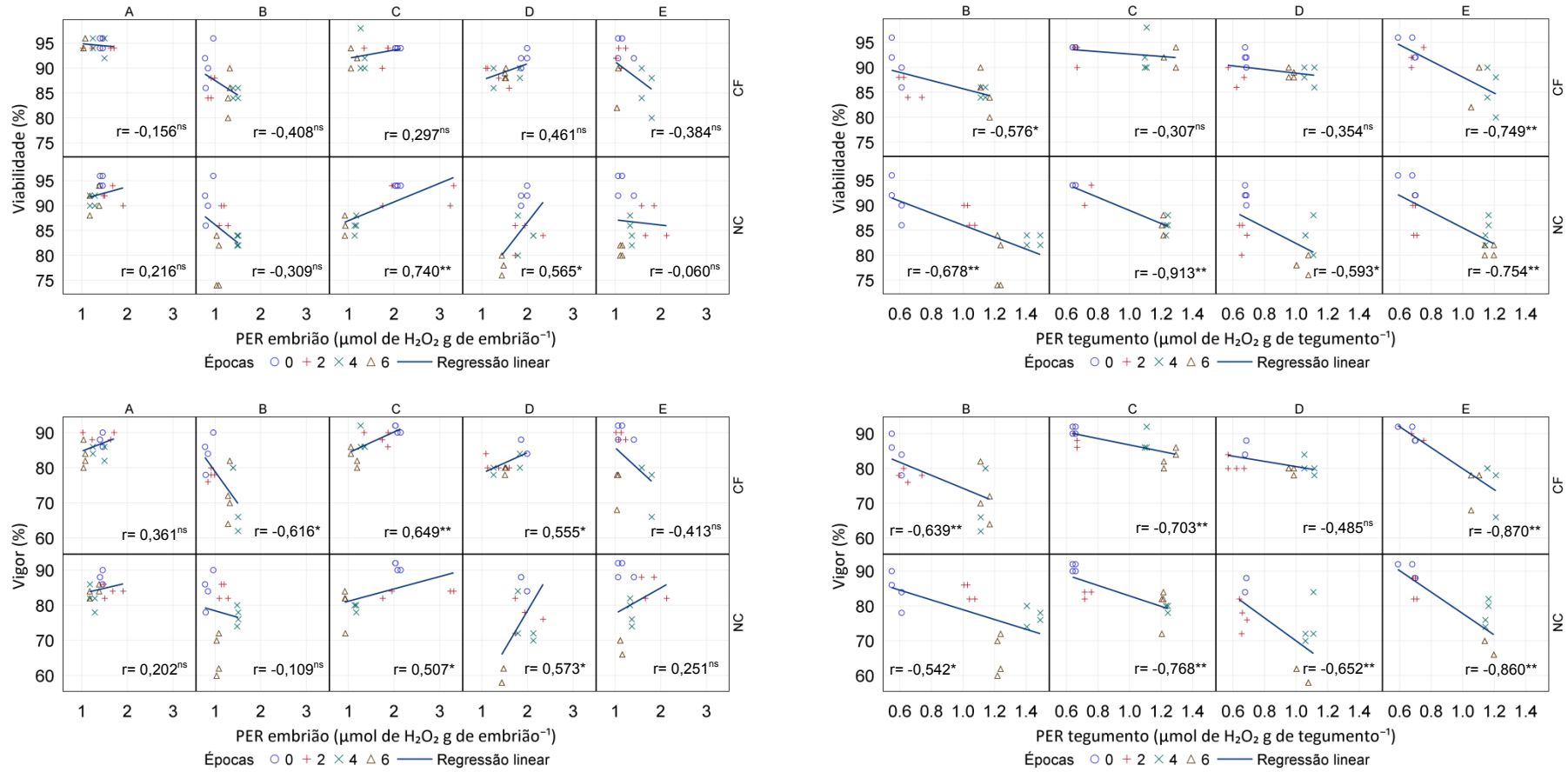


Figura 5.6 – Associação entre a viabilidade e o vigor de sementes com o peróxido de hidrogênio (PER), avaliado no embrião e no tegumento das sementes, em cinco cultivares de soja (A, B, C, D e E) ao longo do armazenamento em câmara fria (CF) e em ambiente não controlado (NC).
 r: coeficiente de correlação de Pearson. ^{ns} correlação não significativa; ** e * correlação significativa a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.

Quanto ao H_2O_2 avaliado no tegumento das sementes, verificou-se correlação negativa entre essa variável e a viabilidade e o vigor das sementes avaliadas nos dois ambientes, indicando que o aumento no teor de H_2O_2 no tegumento propicia redução da qualidade fisiológica das sementes, exceto nas sementes armazenadas em câmara fria das cultivares C para viabilidade e da cultivar D para viabilidade e vigor (Figura 5.6). Ainda, destaca-se na figura 5.6 o forte relacionamento ($> 0,70$) entre o H_2O_2 no tegumento e a viabilidade e vigor das sementes na maioria das cultivares (Figura 5.6).

De maneira semelhante, contudo em outro tecido, Tian, Song e Lei (2008) observaram aumento no conteúdo de H_2O_2 e do radical superóxido no eixo embrionário de sementes de soja e, Lehner et al. (2008) associaram a perda de viabilidade em sementes de trigo com aumento de H_2O_2 , quando as sementes foram submetidas a alta temperatura e UR, em ambos os trabalhos.

As correlações entre o H_2O_2 no tegumento e as variáveis do desempenho fisiológico, de modo geral, possuíram o sinal teórico esperado, uma vez que, segundo Kumar et al. (2015), conforme aumenta-se o período de armazenamento há redução na qualidade fisiológica das sementes, principalmente devido a produção e acúmulo de EROs, especialmente em condições inadequadas de armazenamento.

O acúmulo de espécies reativas de oxigênio, como o H_2O_2 , pode ser prejudicial às sementes em função dos danos causados por esses compostos aos lipídios, proteínas e ao DNA (GRAHAM, 2008; YIN et al., 2010; WOJTYLA et al., 2016). Entretanto, nota-se que para a cultivar C, em câmara fria, não houve correlação do H_2O_2 com a viabilidade, apesar de observado aumento no conteúdo de H_2O_2 no tegumento ao longo do armazenamento (Figura 5.6), isso pode ser um indicativo que essa cultivar é menos vulnerável aos incrementos na concentração de H_2O_2 , ou mesmo, que seu consumo (degradação) ocorre rapidamente após a sua produção. Além disso, destaca-se também, que essa foi a cultivar de tegumento amarelo que apresentou as menores reduções da qualidade fisiológica após o armazenamento.

Apesar da correlação significativa e negativa verificada entre o H_2O_2 no tegumento com a viabilidade e o vigor, não houve acumulação progressiva de H_2O_2 no embrião das sementes, com isso, certamente há outros produtos tóxicos as

células contribuindo com o processo deteriorativo, como os radicais livres e aldeídos, produzidos a partir de outras reações.

Quanto aos metabólitos da rota dos fenilpropanóides, observa-se a ausência de associação entre os teores de lignina e isoflavona com a qualidade fisiológica inicial das sementes (Tabela 5.4). Esse mesmo comportamento é observado entre a isoflavona com a viabilidade e o vigor aos seis meses de armazenamento, em ambos os ambientes. Com isso, infere-se que o maior teor total de isoflavona não contribuiu com a conservação da qualidade fisiológica inicial das sementes. Contudo, apesar desse resultado, não se pode descartar a possível atuação antioxidante das isoflavonas e, para trabalhos futuros, sugere-se quantificar o perfil de cada tipo de isoflavona, bem como verificar a relação destes com o potencial de armazenamento das sementes.

Tabela 5.4 – Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os teores de lignina e isoflavona com o potencial fisiológico (viabilidade e vigor), em sementes de cinco cultivares de soja, avaliadas anterior ao armazenamento (condição inicial) e após seis meses de armazenamento em câmara fria e em ambiente não controlado.

	Condição inicial		Câmara fria		Não controlado	
	TZ VIA	TZ VIG	TZ VIA	TZ VIG	TZ VIA	TZ VIG
Lignina	0,339 ^{ns}	-0,012 ^{ns}	0,632**	0,404 ^{ns}	0,732**	0,660**
Isoflavona	-0,035 ^{ns}	-0,354 ^{ns}	0,358 ^{ns}	0,131 ^{ns}	0,370 ^{ns}	0,365 ^{ns}

^{ns} correlação não significativa; ** e * significativa a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.

TZ VIA: viabilidade avaliada pelo teste de tetrazólio; TZ VIG: vigor avaliado pelo teste de tetrazólio.

O teor de lignina mostrou-se associado à manutenção da qualidade fisiológica das sementes, em ambos os ambientes de armazenamento (Tabela 5.4). A relação entre essas variáveis provavelmente é devido à lignina presente no tegumento das sementes servir como uma proteção aos componentes do próprio tegumento e também ao eixo embrionário e ao tecido de reserva das sementes durante o período de armazenamento. Essa proteção possivelmente é em função das propriedades da lignina, as quais conferem menor permeabilidade às sementes, deixando-as menos suscetíveis a deterioração (FRANÇA NETO et al., 2000), principalmente quando armazenadas em ambiente não controlado, o qual, geralmente, apresenta flutuações nos valores de temperatura e UR do ar, bem como valores dessas variáveis meteorológicas superiores ao armazenamento em condições controladas, como observado nos ambientes em que foram desenvolvidos esse trabalho.

Portanto, com base nos resultados salienta-se a importância do armazenamento das sementes em condições adequadas de temperatura e UR do ar, a fim de garantir a comercialização de sementes de qualidade e evitar o descarte de lotes e a utilização desses como grãos, uma vez que gastos foram despendidos para a produção de sementes.

Além disso, verificou-se que o elevado teor de lignina presente no tegumento das sementes propicia melhor manutenção da qualidade fisiológica das mesmas, contudo tanto esse composto como as isoflavonas não interferiram na resposta da atividade enzimática da SOD e da CAT e a produção de H_2O_2 ao longo do período de armazenamento. Ainda, observou-se que a avaliação das enzimas SOD e CAT, com base na separação de tegumento e embrião, não foi eficiente para avaliar o processo de deterioração das sementes, apesar de outros autores terem observados resultados contraditórios. Estas contradições podem ser atribuídas à falta de padrão na metodologia utilizada para a avaliação enzimática em sementes, a diferença entre espécies, bem como distintas composições químicas e tecidos avaliados dentro da mesma espécie.

Dessa forma, estudos adicionais envolvendo outras ferramentas são fundamentais para o melhor entendimento dos compostos estudados que afetaram a conservação das sementes durante o armazenamento, bem como a identificação dos demais compostos envolvidos nesse processo.

5.6 CONCLUSÕES

O armazenamento em câmara fria mantém a viabilidade inicial das sementes das cultivares A, C e D. Já, o armazenamento em ambiente não controlado reduz a viabilidade das sementes, com taxas de decréscimos variando de 0,61 a 2,13% por mês entre as cultivares.

O vigor das sementes é reduzido durante o armazenamento, principalmente em ambiente não controlado, em todas as cultivares.

Não há associação entre a qualidade fisiológica das sementes com a atividade da superóxido dismutase e da catalase, avaliadas no tegumento e no embrião.

O aumento no conteúdo de peróxido de hidrogênio no tegumento reduz a qualidade fisiológica das sementes armazenadas no ambiente não controlado.

A diferença na tolerância a deterioração ao longo do armazenamento de sementes não está relacionada ao teor total de isoflavonas, entretanto associa-se ao teor de lignina no tegumento, principalmente em ambiente com flutuações na temperatura e UR do ar.

5.7 REFERÊNCIAS

ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337-1344, 2001.

ANDERSON, M. D.; PRASAD, T. K.; STEWART, C. R. changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. **Plant Physiology**, v. 109, n. 4, p. 1247-1257, 1995.

AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, p. 280-292, 1998.

BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, v. 14, n. 2, p. 93-107, 2004.

BALEŠEVIĆ-TUBIĆ, S.; MALENCIC, D.; TATIĆ, M.; MILADINOVIC, J. Influence of aging process on biochemical changes in sunflower seed. **Helia**, v. 28, n. 42, p. 107-114, 2005.

BALEŠEVIĆ-TUBIĆ, S.; TATIĆ, M.; ĐORĐEVIĆ, V.; NIKOLIĆ, Z.; SUBIĆ, J.; ĐUKIĆ, V. Changes in soybean seeds as affected by accelerated and natural aging. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 16, n. 6, p. 6740-6747, 2011.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010a.

BARBOSA, C. Z. dos R.; SMIDERLE, O. J.; ALVES, J. M. A.; VILARINHO, A. A.; SEDIYAMA, T. Qualidade de sementes de soja BRS Tracajá, colhidas em Roraima em função do tamanho no armazenamento. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, p. 73-80, 2010b.

BERHOW, M. A. Modern analytical techniques for flavonoid determination. In: BUSLIG, B. S.; MANTHEY, J. A. **Flavonoids in cell function**. New York: Kluwer Academic, 2002. p. 61-76. (Advances in Experimental Medicine and Biology, v. 505).

BHATTACHARJEE, S. The Language of Reactive Oxygen Species Signaling in Plants. **Journal of Botany**, p. 01-22, 2012.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-259, 1976.

BURSAĆ, M.; KRSTONOŠIĆA, M. A.; MILADINOVIĆB, J.; DORDE, M.; GVOZDENOVIĆA, L.; CVEJIĆA, J. H. Isoflavone composition, total phenolic content and antioxidant capacity of soybeans with colored seed coat. **Natural Product Communications**, v. 12, n. 4, 2017.

CAPELETI, I.; BONINI, E. A.; FERRARESE, M. L. L.; TEIXEIRA, A. C. N.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FERRARESE-FILHO, O. Lignin content and peroxidase activity in soybean seed coat susceptible and resistant to mechanical damage. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 27, n. 1, p. 103-108, 2005.

CARBONELL, S. A. M.; KRZYZANOWSKI, F. C. The pendulum test for screening soybean genotypes for seeds resistant to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, v. 23, n. 2, p. 331-339, 1995.

CARVALHO, E. R.; MAVAIEIE, D. P. R.; OLIVEIRA, J. A.; CARVALHO, M. V.; VIEIRA, A. R. Alterações isoenzimáticas em sementes de cultivares de soja em diferentes condições de armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 12, p. 967-976, 2014.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; FAVONI, S. P. G.; KIKUCHI, A. Extraction time for isoflavone determination. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 4, p. 515-518, 2002.

CASTRO, E. M.; OLIVEIRA, J. A.; LIMA, A. E.; SANTOS, H. O.; BARBOSA, J. I. L. Physiological quality of soybean seeds produced under artificial rain in the pre-harvesting period. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 1, p. 14-21, 2016.

COPELAND, L. O.; McDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. 4 ed. New York: Chapman & Hall, 2001. 467p.

D'AUTRÉAUX, B.; TOLEDANO, M. B. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 8, p. 813-824, 2007.

DAVAR, R.; DARVISHZADEH, R.; MAJD, A. Changes in antioxidant systems in sunflower partial resistant and susceptible lines as affected by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biologia**, v. 68, p. 821-829, 2013.

DINAKAR, C.; DJILIANOV, D.; BARTELS, D. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, v. 182, p. 29-41, 2012.

FINCH-SAVAGE; W. E.; BASSEL, G. W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 01-25, 2015.

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. da. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA CNPSo, 1998. 72 p. (Documentos, 116).

FRANÇA NETO, J. de B.; HENNING, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. Tecnologia de produção de sementes. In: **A cultura da soja no Brasil**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 2000.

FRANÇA NETO, J. de B. Características fisiológicas da semente: germinação, vigor, viabilidade, danos mecânicos tetrazólio, deterioração por umidade tetrazólio e dano por percevejo tetrazólio. In: **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2014/15**. HENNING, A. A.; CORRÊA, D. S.; HENNING, F. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LORINI, I.; FRANÇA NETO, J. de B.; MANDARINO, J. M. G.; OLIVEIRA, M. A.; HIRAKURI, M. H.; LEITE, R. S.; BENASSI, V. T. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 190 p. (Documentos 378).

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; PÁDUA, G. P. de. Características fisiológicas da semente: vigor, viabilidade, germinação, danos mecânicos tetrazólio,

deterioração por umidade tetrazólio, dano por percevejo tetrazólio e sementes verdes. In: **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2015/16**. HENNING, A. A.; HENNING, F. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; PÁDUA, G. P. de; LORINI, I.; FRANÇA NETO, J. de B.; MANDARINO, J. M. G.; OLIVEIRA, M. A.; HIRAKURI, M. H.; LEITE, R. S.; BENASSI, V. T. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 229 p. (Documentos 393).

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909-930, 2010.

GRAHAM, I. A. Seed storage oil mobilization. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 115-142, 2008.

HAJIBOLAND, R. Reative oxygen species and photosynthesis. In: AHMAD, P. **Oxidative damage to plants, antioxidant and networks and signaling**. 1. ed. San Diego: Elsevier, 2014. p. 1-63.

HOSAMANI, J.; DADLANI, M.; SANTHA, I. M.; KUMAR, M. B. A.; JACOB, S. R. Biochemical phenotyping of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] genotypes to establish the role of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in seed longevity. **Agricultural Research**, v. 2, n. 2, p. 119-126, 2013.

HUTH, C. MERTZ-HENNING, L. M.; LOPES, S. J.; TABALDI, L. A.; ROSSATO, L. V.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, F. A. Susceptibility to weathering damage and oxidative stress on soybean seeds with different lignin contents in the seed coat. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 4, p. 296-304, 2016.

JYOTI; MALIK, C. P. Seed deterioration: a review. **International Journal of Life Sciences Biotchenology and Pharma Reserch**, v. 2, n. 3, 2013.

KAPOOR, N.; ARYA, A.; SIDDIQUI, M. A.; KUMAR, H.; AMIR, A. Physiology and biochemical changes during seed deterioration in aged seeds of rice (*Oryza sativa* L.). **America Journal of Plant Physiology**, v. 6, n. 1, p. 28-35, 2011.

KIM, Y. K.; , YOON, H. H.; LEE, Y. D.; YOUN, D.; HA, T. J.; KIM, H.; LEE, J. Anthocyanin extracts from black soybean (*Glycine max* L.) protect human glial cells against oxygen-glucose deprivation by promoting autophagy. **Biomolecules & Therapeutics**, v. 20, n. 1, p. 68-74, 2012.

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T. Vigor de sementes e competição intra-específica em soja. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1248-1256, 2005.

KRÜGER, F. de O.; MORAES, D. M. de; FRANCO, D. F.; COSTA, C. J.; BANDEIRA, J. de M.; MARINI, P. Anti-oxidant activity of seedlings from rice seeds stored in different temperatures over 10 years. **Agrária - Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 2, p. 128-134, 2017.

KUCHLAN, M. K.; KUCHLAN, P.; ONKAR, M.; RAMESH, A.; HUSAIN, S. M. Influence of seed coat compactness around cotyledons, protein and mineral composition on mechanical strength of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] seed coat. **Legume Research**, v. 41, n. 2, p. 246-252, 2018.

KUMAR, S. P. J.; PRASAD, S. R.; BANERJEE, R.; THAMMINENI, C. Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology. **Annals of Botany**, v. 116, p. 663-668, 2015.

LEHNER, A.; MAMADOU, N.; POELS, P.; CÔME, D.; BAILLY, C.; CORBINEAU, F. Changes in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during ageing in wheat grains. **Journal of Cereal Science**, v. 47, n. 3, p. 555-565, 2008.

LEUNG, D. W. M. Studies of catalase in plants under abiotic stress. In: GUPTA, D. K.; PALMA, J. M.; CORPAS, F. J. **Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants**. Springer, 2018. p. 27-40.

LIU, J.; OSBOURN, A.; MA, P. MYB transcription factors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants. **Molecular Plant**, v. 8, p. 689-708, 2015.

MOREIRA-VILAR, F. C.; SIQUEIRA-SOARES, R. de C.; FINGER-TEIXEIRA, A.; OLIVEIRA, D. M.; FERRO, A. P.; ROCHA, G. J.; FERRARESE, M. L. L.; SANTOS, W. D.; FERRARESE-FILHO, O. The acetyl bromide method is faster, simpler and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues than Klason and thioglycolic acid methods. **Plos One**, v. 9, n. 10, p. 01-7, 2014.

MORIYA, L. M.; MACHADO NETO, N. B.; MARKS, T. R.; CUSTÓDIO, C. C. Seed vigour better to be assessed by physiological markers rather than expression of antioxidant enzymes in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 1, p. 30-40, 2015.

MUJIĆ, I.; ŠERTOVIĆ, E.; JOKIĆ, S.; SARIĆ, Z.; ALIBABIĆ, V.; VIDOVIĆ, S.; ŽIVKOVI, J. Isoflavone content and antioxidant properties of soybean seeds. **Croatian Journal of Food Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 16-20, 2011.

ROCK, C. D. Phenylpropanoid metabolism. **Encyclopedia of Life Sciences**, p. 1-18, 2017.

SAISANTHOSH, K.; SUMALATHA, G. M.; SHUBA, A. C.; KOMALA, N. T.; PATIL, N. K. B. Role of enzymatic antioxidants defense system in seeds. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, p. 584-594, 2018.

SATTLER, S. E.; GILLILAND, L. U.; MAGALLANES-LUNDBACK, M.; POLLARD, M.; DELLAPENNA, D. Vitamin E is essential for seed longevity, and for preventing lipid peroxidation during germination. **Plant Cell**, v. 16, p. 1419-1432, 2004.

SEO, W. D.; KANG, J. E.; CHOI, S.; LEE, K.; LEE, M.; PARK, K.; LEE, J. H. Comparison of nutritional components (isoflavone, protein, oil, and fatty acid) and antioxidant properties at the growth stage of different parts of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Food Science and Biotechnology**, v. 26, n. 2, p. 339-347, 2017.

TIAN, X.; SONG, S.; LEI, Y. Cell death and reactive oxygen species metabolism during accelerated ageing of soybean axes. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 55, n. 1, p. 33-40, 2008.

TIMÓTEO, T. S.; MARCOS FILHO, J. Seed performance of different corn genotypes during storage. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 2, p. 207-215, 2013.

VOGT, T. Phenylpropanoid Biosynthesis. **Molecular Plant**, v. 3, n. 1, p. 02-20, 2010.

WOJTYLA, L.; LECHOWSKA, K.; KUBALA, S.; GARNCZARSKA, M. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 66, p. 01-16, 2016.

YIN, L.; WANG, S.; ELTAYEB, A. E.; UDDIN, M. I.; YAMAMOTO, Y.; TSUJI, W.; TAKEUCHI, Y.; TANAKA, K. Overexpression of dehydroascorbate reductase, but not monodehydroascorbate reductase, confers tolerance to aluminium stress in transgenic tobacco. **Planta**, v. 231, p. 609-621, 2010.

6 CONCLUSÕES GERAIS

A qualidade fisiológica das sementes é reduzida ao longo do armazenamento, com maiores taxas de decréscimo no ambiente não controlado.

As cultivares apresentam comportamento diferenciado quanto a conservação do potencial fisiológico ao longo do armazenamento.

Os metabólitos da rota dos fenilpropanóides estudados, especialmente a lignina, interferem no potencial de armazenamento das sementes.

O teor de lignina no tegumento correlaciona-se negativamente com os parâmetros de absorção de água pelas sementes.

Sementes que absorvem maiores quantidades de água possuem menor tolerância à deterioração frente às flutuações na temperatura e UR do ar que ocorrem no armazenamento em ambiente não controlado, afetando negativamente o potencial fisiológico dessas sementes.

Cultivares com maiores teores de lignina apresentam maior potencial de armazenamento, principalmente em ambiente não controlado.

Não há associação entre a qualidade fisiológica das sementes com a atividade da superóxido dismutase e da catalase, avaliadas no tegumento e no embrião.

O aumento no conteúdo de peróxido de hidrogênio no tegumento reduz a qualidade fisiológica das sementes armazenadas no ambiente não controlado.