



ALISSON FRANCELINO DOS REIS GUERRA

**ESPESSURA E TEOR DE LIGNINA NO TEGUMENTO E SUA
RELAÇÃO COM QUALIDADE DE SEMENTES DE SOJA**

LAVRAS – MG

2019

ALISSON FRANCELINO DOS REIS GUERRA

**ESPESSURA E TEOR DE LIGNINA NO TEGUMENTO E SUA RELAÇÃO COM
QUALIDADE DE SEMENTES DE SOJA**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Agronomia, para obtenção do título de Bacharel.

Profa. Dra. Heloísa Oliveira dos Santos

Orientadora

Msc. Elisa de Melo Castro

Co orientadora

LAVRAS – MG

2019

ALISSON FRANCELINO DOS REIS GUERRA

**ESPESSURA E TEOR DE LIGNINA NO TEGUMENTO E SUA RELAÇÃO COM
QUALIDADE DE SEMENTES DE SOJA**

**THICKNESS AND LIGNIN CONTENT IN THE INTEGUMENT AND THEIR
RELATIONSHIP WITH SOYBEAN SEEDS QUALITY**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Agronomia, para obtenção do título de Bacharel.

Aprovada em: 13/06/2019

Heloísa Oliveira dos Santos

DAG/UFLA

Elisa de Melo Castro

DAG/UFLA

Everson Reis Carvalho

DAG/UFLA

Thaísa Fernanda Oliveira

DAG/UFLA

Profa. Dra. Heloísa Oliveira dos Santos

Orientadora

Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho

Co orientadora

LAVRAS – MG

2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, pela saúde e pelas capacidades necessárias para atingir todos os meus objetivos e realizar mais este sonho.

Aos meus pais, Sebastião e Maria Aparecida, e meus irmãos, Andressa e Álvaro, por todo amor, dedicação e carinho. Amo vocês incondicionalmente.

Aos meus familiares e amigos, por todo o suporte durante estes anos de graduação.

A Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Agricultura, ao Setor de Sementes e funcionários, por todo apoio, suporte e aprendizado.

A minha orientadora, Profa Dra Heloísa Oliveira dos Santos, e a minha Co orientadora, Msc Elisa de Melo Castro, pela dedicação, companheirismo, amizade e todo conhecimento transmitido

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão de bolsa de estudos e recursos para a execução do projeto.

Aos núcleos de estudo G-Milho e NEMEC, e a Embrapa Solos, pelo conhecimento científico e prático disponibilizados.

To Kurt Weiss Greenhouses Inc due to all the foreground, growth and friendships. Special thanks to Mr. Bill Zalakar, Mrs. Toni Frank and Ravshan Mirzaev for being so important, kind and supportive during my stay in the United States.

A Souza Cruz/BAT, pela experiência profissional, conhecimento ímpar, e profissionais/amigos competentes que me foram apresentados.

E finalmente, aos meus grandes amigos, Ana Reale, Giuliana Duarte, Ivens Carvalho, Larah Martins, Lorena Dumbá, Miguel Rios, Osmar de Almeida, Peterson Nunes, Ronnie Tomaz, Vinícius Zuppa e Yara Alves, pelo companheirismo em cada dia de estudo, ombros e ouvidos em dias difíceis, piadas e risadas constantes em momentos de descontração, goles tomados, e pelas memoráveis resenhas na cantina.

Enfim, agradeço também a todos os mestres pelos conhecimentos transmitidos, e aqueles que de alguma forma contribuíram para que este sonho se tornasse possível.

A todos vocês deixo aqui o meu **muito obrigado!**

RESUMO

Para se obter elevados níveis de produtividade na cultura da soja, a semente plantada deve apresentar boa qualidade fisiológica, e esta qualidade pode ser afetada por diferentes fatores. O tegumento é um dos principais determinantes da capacidade de germinação e vigor das sementes e algumas de suas características morfológicas podem influenciar na absorção de água. Objetivou-se neste trabalho verificar a influência da espessura e dos teores de lignina no tegumento na qualidade de sementes de cultivares de soja e seus cruzamentos. As sementes das cultivares CD201, CA115, MS8400, CD202, SYN1263 e SYN1279, seus cruzamentos e recíprocos foram avaliadas quanto a germinação, teores de lignina e espessura do tegumento, que foi determinada por microscopia eletrônica. Para os testes de germinação de sementes foram avaliadas 200 sementes por cultivar. A germinação das sementes foi avaliada cinco e oito dias após serem semeadas em papel umedecido germitest. Os teores de lignina foram determinados em quatro repetições de 50 tegumentos. A espessura do tegumento foi determinada em 10 tegumentos de sementes por material. Objetivou-se com este trabalho realizar a análise ultraestrutural do tegumento de sementes de soja, seus cruzamentos e recíprocos, e a sua relação com a qualidade fisiológica. Ao final dos testes e análises microestruturais concluiu-se que, existe variabilidade dos teores de lignina em sementes de soja, e que a espessura do tegumento não está diretamente ligada com a qualidade fisiológica das sementes desta cultura.

Palavras-chave: *Glycine max*, qualidade fisiológica, tegumento de soja

ABSTRACT

In order to get high yield levels in soybean crop the seed planted must present a good physiology quality, and this quality may be affected by different factors. The integument is one of the main determinants of the seed germination capacity and vigor and some of its morphological characteristics may have an influence on water absorbance. The seeds of the cultivars CD 201, CA 115, MS 8400, CD 202, Syn 1263 and Syn 1279, their crosses and reciprocals were evaluated by the germination, lignin contents and integument thickness, which was determined by electronic microscopy. For the seeds germination tests were evaluated 200 seeds per cultivar. The seeds germination was evaluated five and eight days after being seeded on moistened paper which is called germitest paper. The lignin contents were determined by four repetitions of 50 integuments. The integument thickness was determined on 10 seeds integuments per material. The objective of this study was making the ultrastructural analysis of soybean seeds integument, their crosses and reciprocals and find out if there was any relationship of these materials with their physiological quality. At the end of those analysis we could conclude that there is variability among soybean seeds lignin contents and that the integument thickness is not directly linked with soybean crop seeds physiological quality.

Keywords: *Glycine max*, physiological quality, soybean integument

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REFERENCIAL TEÓRICO	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5. CONCLUSÕES.....	21
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.), pertencente a família fabaceae, possui grande importância no cenário mundial e para o agronegócio brasileiro, isso se deve a suas diferentes formas de utilização na cadeia produtiva. As principais utilizações são na alimentação animal e na alimentação humana, os teores de óleo variam de 15% a 27%, e os teores de proteína variam entre 28% e 52%.

Hoje o Brasil é o segundo maior produtor, e o maior exportador de soja no cenário mundial e é responsável por 35% da produção mundial de soja (EMBRAPA, 2018). O crescimento do cultivo da cultura da soja nas últimas décadas no país juntamente com os avanços tecnológicos nos sistemas de produção, acarretaram em uma safra com produção recorde no ano passado, produzindo 119,3 milhões de toneladas do grão. Somado a isso, também tivemos um aumento da produtividade da leguminosa, que hoje é de 3.193 kg/ha. Um valor 13,1% maior em relação aos 2.823 kg/ha da safra 2006/07 (CONAB, 2019). Estes dados, aliados ao aumento de produtividade, elevam a necessidade de obtenção de sementes de qualidade elevada.

Uma semente de alta qualidade deve garantir sua pureza genética e sanitária, bem como um elevado grau de pureza e qualidade fisiológica. A soma desses aspectos vai refletir diretamente no potencial produtivo da cultura.

Diversos autores estudaram e relataram uma existente relação do teor de lignina presente no tegumento da semente com a permeabilidade, longevidade e potencial de deterioração das sementes (LEBEDEFF, 1947; PANOBIANCO, 1997; TAVARES et al., 1987).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura da soja

O centro de origem da cultura da soja é a China, sendo que a região da Manchúria é o centro de diversidade genética. As espécies de soja selvagens por meio de cruzamentos naturais deram origem à soja que conhecemos hoje, que foram domesticadas por cientistas chineses (EMBRAPA, 2004). Desde as primeiras citações, a cultura da soja foi sempre uma das principais fabáceas cultivadas no Oriente, sendo utilizada na alimentação, e para fins medicinais (MULLER, 1981).

No Brasil, o cultivo de soja expandiu a partir da década de 70, concentrou-se nos estados da região sul do Brasil até a década de 80 (BRASIL, 2009). O cultivo do grão hoje é realizado praticamente em todo território nacional, desde as baixas latitudes equatoriais tropicais até as altas latitudes gaúchas, apresentando em muitas regiões, produtividades médias superiores à média obtida pela soja norte-americana.

Esse nível de produtividade tem sido possível, devido ao uso de cultivares devidamente adaptados à região tropical, que apresenta elevada incidência de luz, temperaturas adequadas e precipitação intensa e relativamente bem distribuída ao longo do ciclo fenológico da soja, além da adequada construção da fertilidade do solo, adubação equilibrada, evolução do sistema de plantio direto e adoção de práticas de manejo que visam a obtenção de alta produtividade. Ao final dos anos 1980 já se comentava sobre a importância da soja no combate à fome (CÂMARA, 2015).

A produção de soja no Brasil tem aumentado significativamente nos últimos anos, e a soja é a principal responsável das exportações brasileiras (NEUMANN, 2000). As expectativas para a temporada 2018/19 mantêm a tendência de crescimento da área plantada, atingindo 1,9% de crescimento em relação à safra passada, correspondendo ao plantio de 35.802 mil hectares (CONAB, 2019). Hoje, o Brasil ocupa a segunda posição no ranking mundial de produção de soja, na primeira posição está os Estados Unidos da América (CONAB, 2017).

A soja é uma das plantas mais cultivadas no mundo, tendo grande importância na economia brasileira. O desenvolvimento da cultura da soja está associado a novas tecnologias,

principalmente aquelas relacionadas à produção de sementes de alta qualidade (PELÚZIO et al., 2008).

2.2 Qualidade de semente de soja

Para que uma semente de soja seja considerada de alta qualidade, quatro fatores associados são necessários. A qualidade sanitária, que está relacionada à presença de patógenos que possam prejudicar a semente em algum aspecto, sejam eles vírus, fungos ou bactérias. A qualidade física, que garante que não haja presença de materiais indesejados no lote de sementes. A qualidade genética, que se refere ao genótipo contido na semente (VIEIRA; RAVA, 2000). E a qualidade fisiológica das sementes, que é de suma importância para a emissão da plântula, estabelecendo a população de plantas e está diretamente relacionada com o potencial produtivo (FRANÇA-NETO et al., 2010).

Existem fatores que interferem na produção de sementes de soja, com elevada qualidade fisiológica, dentre eles destacam-se: a definição da época de semeadura, a determinação de regiões mais favoráveis à produção de sementes, a utilização de cultivares com maior qualidade de semente, a colheita no momento adequado, os danos mecânicos, o ataque de percevejos, a infecção causada por microorganismos patogênicos e as condições de armazenamento (FRANÇANETO et al., 1984; HENNING et al., 1985; MOTTA et al., 2000). O local de armazenagem deve estar livre de fungos e roedores. Dentro do armazém, a temperatura não deve ser superior a 25°C, e a umidade relativa do ar não deve ultrapassar 70%. Se não for possível atender a essas condições na propriedade, recomenda-se ao agricultor retirar as sementes do armazém do seu fornecedor somente em época próxima à semeadura.

Entretanto, observaram cultivares de soja altamente produtivas gerando sementes de baixa qualidade, o que dificulta a manutenção dessas cultivares no mercado (BALDONI et al., 2013). Isto pode ter ocorrido por consequência das adversidades que as sementes originadas destas cultivares podem ter encontrado no campo. De modo que uma semente que carregue em seu genoma um alto potencial produtivo, não seja capaz de expressá-lo em sua totalidade devido à problemas fisiológicos desenvolvidos pelo ambiente a que este material foi exposto.

(COSTA et al., 2003), observaram que sementes de soja que foram avaliadas em diferentes regiões quanto a qualidade sanitária, física, e fisiológica, apresentaram pior

qualidade, danos mecânicos, e alta porcentagem de quebra e ruptura do tegumento. No período entre a maturidade fisiológica e a semeadura, podem ocorrer perdas de qualidade em consequência de algumas modificações que podem ocorrer nos transcritos e proteicos a nível fisiológico. Essa perda de qualidade é percebida com o passar do tempo, prejudicando o vigor da semente (GARCIA et al., 2004).

De acordo com (MORAES, 2000), a velocidade que ocorrerá o déficit de qualidade após maturidade fisiológica nas sementes irá variar de acordo com a cultivar, e com as condições que a semente irá se deparar no campo, na colheita, no beneficiamento, e no período de armazenamento. O modo de produção, de beneficiamento, de armazenagem, e características genotípicas, estão relacionados com a susceptibilidade das sementes a deterioração.

É comum haver perda de qualidade no campo de produção, mais comum ainda no período de maturação da semente, isso está levando muitos pesquisadores a priorizar a utilização de sementes que tenham um tegumento com grau maior de impermeabilidade (GILIOLI, FRANÇA NETO, 1981; PESKE, PEREIRA, 1983; HARTWIG, POTTS, 1987).

Visto que o genótipo está diretamente ligado com a qualidade das sementes, os programas de melhoramento genético buscam desenvolver cultivares resistentes a pragas e doenças, com maior teor de proteína e de óleo, e ultimamente, sementes que possuam maior quantidade de lignina em seu tegumento (COSTA et al., 2001).

2.3 Lignina em tegumento de soja

A lignina é um polímero hidrofóbico, ou seja, insolúvel em água, é uma substância com baixa elasticidade e resiste altamente à pressão, é o segundo polímero mais presente nos vegetais, ficando atrás apenas da celulose, é encontrado em maiores quantidades na parede celular, de 60 até 90% (EGG-MENDONÇA, 2001).

A epiderme, hipoderme e parênquima interior, juntos formam as camadas do tegumento da semente de soja (ESAU, 1976).

Diversos autores verificaram que a lignina presente no tegumento pode influenciar positivamente a qualidade de sementes. Pois este polímero proporciona rigidez e propriedades hidrofóbicas, favorecendo a resistência a danos mecânicos, transporte de água e defesa contra ataques de patógenos (BOERJAN et al., 2003; BOUDET et al., 2003).

Sementes duras dificultam a penetração de água em seu tegumento, e são consideradas mais tolerantes à deterioração devido sua maior impermeabilidade do tegumento (CUSTÓDIO et al., 2002).

Sementes de linhagens de soja com a característica de tegumento duro, tendem a absorver água em menor velocidade, garantindo assim maior proteção contra a deterioração no campo (HORLINGS; GAMBLE; SHAMMUG, 1991).

A barreira que o revestimento das sementes exerce em relação ao seu comportamento contra condições ambientais adversas e práticas de manejo, ocorre pelo fato de constituir uma camada protetora. Esta limita o contato direto da parte interna da semente com o meio ambiente, protegendo assim o embrião contra lesões mecânicas e de microorganismos e insetos. Além disso, o tegumento da semente controla as trocas gasosas entre a semente e o meio ambiente ou seu processo de embebição (SILVA et al., 2008).

2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

A visualização de amostras de sementes visando determinar a espessura da camada de células em ampulheta e células paliçádicas podem ser realizadas por um microscópio eletrônico de varredura (ALVES, 2006).

A microscopia eletrônica de varredura é uma grande ferramenta para analisar e observar microestruturas de objetos. O equipamento possui elevada resolução, de 2 a 5 nanômetros, enquanto instrumentos avançados de pesquisa atingem 1 nanômetro (NAGATANI et al., 1987).

Os microscópios eletrônicos de varredura (MEV) surgiram pela primeira vez no mercado em 1965, e desde então sua utilização tornou-se indispensáveis em muitos tipos de pesquisa biológica, auxiliando para a classificação e taxonomia de fungos e insetos, estudo da morfologia de pólenes e em pesquisas de superfícies de diversas estruturas de animais e plantas (GALLET, 2003).

Os MEV se tornaram uma importante ferramenta na detecção de patógenos, e na visualização de suas características morfológicas, também é importante para a avaliação de alguns tratamentos em sementes, como a termoterapia (SILVA et al., 2002), entre outros métodos de controle, para a determinação de sua eficiência.

Com a utilização da microscopia eletrônica de varredura, foram encontrados poros na testa das sementes de soja (WOLF; BAKER, 1972), o que fez estudiosos considerarem uma possível relação entre a impermeabilidade da testa e a presença ou não de poros.

Estudos realizados através de microscopia eletrônica com corte transversal ao tegumento da semente de soja possibilitaram observar, que a composição estrutural do tegumento é constituída pela epiderme da testa, que é formada pelas células paliçádicas e cutícula; hipoderme da testa; e pelas células parenquimatosas (PESKE; PEREIRA, 1983).

É possível visualizar as camadas de células do tegumento e determinar a relação existente com a qualidade fisiológica das sementes, com a utilização de um microscópio eletrônico de varredura. Principalmente com a utilização de elétrons secundários (ALVES, 2006), a análise estrutural do tegumento das sementes com utilização do microscópio eletrônico de varredura pode ser de grande auxílio para observação do tecido e melhor compreensão de danos celulares aos quais as sementes podem ter sido expostas.

Os padrões ultraestruturais observados no tegumento de sementes sob microscopia eletrônica de varredura têm sua relevância reconhecida e são considerados confiáveis e informativos para a elaboração de hipóteses filogenéticas e taxonômicas (KOUL et al., 2000)

Os MEV são um dos mais versáteis instrumentos disponíveis para a observação e análise das características microestruturais de materiais sólidos. O primeiro trabalho reconhecido descrevendo o conceito de um MEV é o de Knoll (KNOLL, 1935).

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório Central de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura e no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural da Universidade Federal de Lavras. Foram utilizadas sementes de soja do ano agrícola de 2015/2016. Estes materiais foram divididos em dois grupos e cruzados entre si, obtendo assim seus híbridos e recíprocos, como mostram as tabelas 1 e 2 abaixo.

Tabela 1: Identificação das cultivares com base na qualidade fisiológica.

Cultivares	
Alta qualidade	Baixa qualidade
CD201	CD202
CA115	Syn1263
MS8400	Syn1279

Tabela 2: Identificação dos cruzamentos resultantes dos dois grupos de cultivares de soja, sendo o primeiro grupo composto por três cultivares de alta qualidade (CD201, MS8400 e CA115) e três cultivares de baixa qualidade fisiológica (CD202, Syn1263 e Syn1279), em dialelo parcial.

Cruzamentos	
Cruzamentos (♀♂)	Recíproco
Syn1263 x CA115	CA115 X Syn1263
Syn1263 x MS8400	MS8400 x Syn1263
Syn1263 x CD201	CD201 x Syn 1263
CD202 x MS8400	MS8400 x CD202
CD202 x CD201	CD201 x CD202
CD202 x CA115	CA115 x CD202
Syn1279 x CA115	CA115 x Syn1279
Syn1279 x MS8400	MS8400 x Syn1279
Syn1279 x CD201	CD201 x Syn1279

As sementes foram colhidas no estágio R8 (em maturação plena das sementes), com uma porcentagem média de 18 % de umidade e posteriormente secadas naturalmente até 12% de umidade. Após serem debulhadas manualmente as sementes foram separadas em peneiras de 5.55 mm e 6.35 mm para uniformizá-las e selecioná-las para posteriores avaliações.

Após a pesagem das sementes, estas foram armazenadas em sacos de papel em câmara fria do laboratório central de sementes a uma temperatura 10 °C e 50% de umidade relativa. As sementes foram tratadas, no momento do teste, com os fungicidas Vitavax-Thiram 200 SC (200 ml p/ 100 kg de sementes) e água (300 ml p/ 100 kg de sementes).

3.1 Teste de germinação

Para o teste de germinação, foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes. As sementes foram semeadas em papel germitest (3 folhas) e umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Os rolos montados foram mantidos em germinador a 25°C. As avaliações foram efetuadas aos 5 e 8 dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

A análise das porcentagens de sementes que germinaram e formaram plântulas normais após 5 e 8 dias em câmara de germinação, foi realizada em delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições e as médias foram comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade.

3.2 Análise do tegumento de sementes de soja por meio de microscopia eletrônica de varredura

Os tegumentos das sementes dos progenitores, foram imersos em fixador Karnovsky modificado (Glutaraldeído 2,5%, Formaldeído 2,5 % em tampão Cacodilato de sódio 0,05 M pH 7,2 e CaCl₂ 0,001 M), onde permaneceram por 24 horas. Para a avaliação da espessura das camadas das células paliçádicas e das células em ampulheta, os tegumentos foram colocados em glicerol por 30 minutos e depois cortados transversalmente com bisturi em nitrogênio líquido. Em seguida foram lavados em água destilada por três vezes e submetidos à desidratação em série crescente de acetona. O tempo de exposição dos tegumentos às soluções foi de 10 minutos para cada concentração de acetona (25%, 50%, 75%, 90%), e três vezes de

10 minutos na concentração de 100%. Uma vez desidratado, o material foi submetido à secagem ao ponto crítico no secador CPD 030 e posterior banho de ouro no evaporador SCD 050. A visualização e análise das amostras para determinação da espessura das camadas das células paliçádicas e das células em ampulheta foi feita em microscópio eletrônico de varredura LEO Evo 40 (ALVES, 2006), que nos fornece imagens semelhantes à da Figura 1.

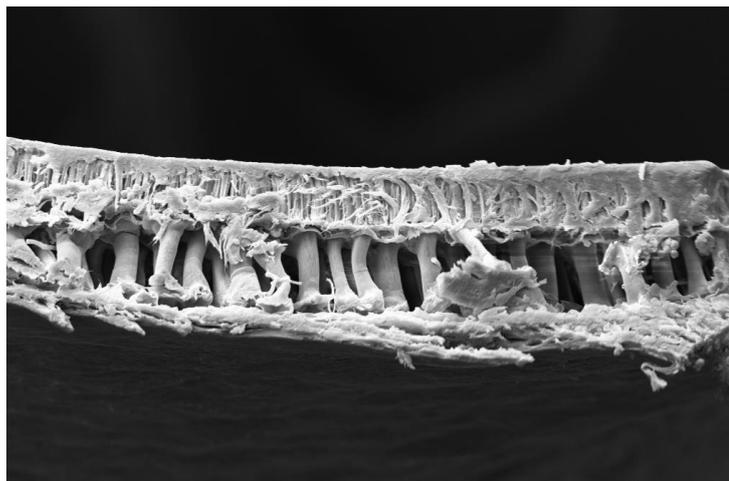


Figura 1: Tegumento de soja cortado transversalmente visualizado através de microscópio eletrônico de varredura LEO Evo 40.

Para a análise da espessura das camadas das células paliçádicas e das células em ampulheta foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3 Determinação do teor de lignina no tegumento

Os tegumentos das diferentes cultivares foram removidos e macerados em cadinho usando-se nitrogênio líquido. As amostras foram lavadas 2 vezes com 1,5 mL de triton e centrifugadas a 10.000 rpm, por 10 min, descartando-se o sobrenadante. O precipitado foi lavado com 1,5 mL de água destilada e novamente centrifugado a 10.000 rpm, por 10 min, descartando-se o sobrenadante. Em seguida, foram secadas por 8 h em liofilizador (Integrated SpeedVac System, modelo L 101, marca Liobras). Deste material liofilizado, 30 mg foram pesados e armazenados em dessecador para posterior análise de lignina.

Um volume de 1,5 mL de metanol 80% foi adicionado aos 30 mg de tegumento, agitado por 15 horas em agitador rotativo em temperatura ambiente e centrifugado a 12.000 rpm, por 5 min. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi secado a 65°C, por 4 h. O resíduo seco insolúvel em metanol, contendo lignina e ácidos fenólicos esterificados da parede celular, foi utilizado para determinação de lignina, de acordo com metodologia de Barber e Ride (1988), com algumas modificações. Para tanto, um volume de 1,5 mL de solução contendo ácido tioglicólico e HCl 2M (proporção de 1:10) foi adicionado ao resíduo.

Os microtubos foram agitados suavemente para a hidratação do resíduo e então colocados em banho-maria a 100°C, por 4 h. Então os microtubos foram colocados em gelo para resfriar rapidamente por 10 min e então centrifugados a 10.000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado com 1,5 mL de água destilada e deionizada e novamente centrifugado a 10.000 rpm, por 10 min. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi ressuspensão em 1,5 mL de NaOH 0,5 M, sendo a mistura agitada em agitador rotativo, por 15 h, em temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 10.000 rpm, por 10 min e o sobrenadante foi transferido para novo microtubo, no qual foram adicionados 200 µL de HCl concentrado e mantido em câmara fria (4 °C), por 4 h, para permitir a precipitação da lignina ligada ao ácido tioglicólico. A seguir, a mistura foi centrifugada a 10.000 rpm, por 10 min, o sobrenadante descartado e o precipitado ressuspensão em 1,5 mL de NaOH 0,5 M. A absorbância desta solução foi determinada a 280 nm e os valores calculados com base na curva de lignina, sendo expresso em mg de lignina por grama de tecido seco.

A análise do teor de lignina foi realizada em delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições e as médias foram comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a análise dos resultados foi possível observar que a cultivar MS8400 obteve o pior resultado para 1° contagem quando comparado com as outras cinco cultivares e aos 18 cruzamentos avaliados. Os cruzamentos CD202 x CD201; MS8400 x Syn1263; e CD201 x Syn1263 obtiveram os piores resultados dentre os cruzamentos analisados nesta avaliação, como exposto na Tabela 3 logo abaixo.

Tabela 3: Resultados dos testes de 1° contagem, germinação e teor de lignina para os genótipos de soja.

Genótipos	1° Cont. (%)	Germ. (%)	L (mg/g)
CD201	92 a	97 a	0.587 b
CA115	98 a	100 a	0.410 c
MS8400	49 d	61 e	0.370 d
CD202	98 a	100 a	0.405 c
Syn1263	98 a	99 a	0.215 h
Syn1279	92 a	97 a	0.310 f
Syn1263 x CA115 (♀♂)	92 a	97 a	0.202 h
Syn1263 x MS8400	91 a	98 a	0.400 c
Syn1263 x CD201	85 b	97 a	0.217 h
CD202 x MS8400	97 a	100 a	0.355 d
CD202 x CD201	67 c	85 c	0.225 h
CD202 x CA115	96 a	100 a	0.615 a
Syn1279 x CA115	87 b	95 b	0.420 c
Syn1279 x MS8400	96 a	97 a	0.363 d
Syn1279 x CD201	93 a	99 a	0.600 b
CA115 X Syn1263	94 a	99 a	0.378 d
MS8400 x Syn1263	70 c	85 c	0.448 c
CD201 x Syn 1263	65 c	77 d	0.408 c
MS8400 x CD202	85 b	94 b	0.260 g
CD201 x CD202	99 a	100 a	0.428 c
CA115 x CD202	98 a	99 a	0.303 f
CA115 x Syn 1279	93 a	98 a	0.373 d
MS8400 x Syn1279	84 b	89 b	0.325 e
CD201 x Syn1279	83 b	93 b	0.638 a
CV(%)	6,85	3,9	6,61

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas nas colunas, não diferem pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Os melhores resultados encontrados para 1° contagem foram das cultivares CD201, CA115, CD202, Syn1263 e Syn1279, e dos cruzamentos Syn1263 x CA115; Syn1263 x MS8400; CD202 x MS8400; CD202 x CA115; Syn1279 x MS8400; Syn1279 x CD201; CA115 x Syn1263; CD201 x CD202; CA115 x CD202; CA115 x Syn1279 (Tabela 3).

Ao avaliarmos os resultados obtidos para germinação, o pior resultado obtido dentre as cultivares e os cruzamentos foi novamente a cultivar MS8400, o pior resultado entre os cruzamentos ao avaliar a germinação foi do cruzamento CD201 x Syn1263 (Tabela 3).

As cultivares com melhores resultados para germinação, são as mesmas que foram classificadas como melhores para a 1° contagem CD201, CA115, CD202, Syn1263 e Syn1279. Já nos melhores resultados dentre os cruzamentos está o cruzamento Syn1263 x CD201, além de todos os cruzamentos classificados como melhores para 1° contagem, são eles Syn1263 x CA115; Syn1263 x MS8400; CD202 x MS8400; CD202 x CA115; Syn1279 x MS8400; Syn1279 x CD201; CA115 x Syn1263; CD201 x CD202; CA115 x CD202; CA115 x Syn1279 (Tabela 3).

A Tabela 4 mostra que as maiores espessuras das camadas de células paliçádicas puderam ser verificadas na cultivar CD201 e de células em ampulheta na cultivar CD202. Com isso, os melhores resultados do conjunto de ambas foram identificados em tegumento de sementes das cultivares CD201 e CD202, dados que podem justificar o alto poder germinativo destes materiais (Tabela 3). Por meio de análises anatômicas histoquímicas obtidas por microscopia de luz, foi observado que a lignina é depositada nessas duas camadas (MENEZES et al., 2009).

Tabela 4: Resultados de espessura (μm) das camadas de células paliçádicas (CP), de células em ampulheta (CA) e do conjunto de células paliçádicas + ampulheta (CPA) de sementes de soja.

Genótipos	CP (μm)	CA (μm)	CPA (μm)
CD201	38,50a	33,90b	72,40a
CA115	34,50b	26,10c	59,60c
MS8400	26,70c	32,90b	59,70c
CD202	29,30c	42,20a	71,50a
Syn1263	33,60b	32,80b	66,70b
Syn1279	34,00b	26,20c	59,50c
CV(%)	1,02	1,05	1,12

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas nas colunas, não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Considerando todas as análises realizadas, as progênies obtidas dos cruzamentos das seis linhagens apresentaram comportamento variado para todos os caracteres avaliados. Dentre as progênies, podemos destacar aquelas obtidas a partir do cruzamento das linhagens com altas porcentagens de germinação CA115 e CD202. Estas últimas, ao lado da linhagem CD201, também foram capazes de formar cruzamentos onde foram obtidas progênies com altos teores de lignina, que possivelmente possuem uma resistência mecânica elevada, como a progênie CD201 (F) x Syn1279 (M). Contudo, a que merece um reconhecimento especial, é a progênie CD202 (F) x CA115 (M). Pois, além de apresentar um teor de lignina significativamente alto, também mostrou altas porcentagens de germinação (Tabela 3). Outra observação interessante é a variação no comportamento das progênies, quanto ao poder de germinação e teor de lignina, que é influenciado pelo papel dos genitores nos cruzamentos quando utilizados como pai ou mãe.

O estudo da variabilidade genética em populações de soja gera informações importantes para os programas de melhoramento. A qualidade fisiológica de sementes é um caráter de grande importância para garantir um estande adequado e plantas vigorosas. Dada a importância na obtenção de sementes de boa qualidade, alguns autores têm comprovado que cultivares de soja com maior teor de lignina no tegumento não garantem necessariamente uma semente de alta qualidade fisiológica. Uma vez que a qualidade de sementes está relacionada a muitos outros fatores intrínsecos ao genótipo (CARVALHO et al., 2014).

Metodologias como a determinação do conteúdo de lignina no tegumento de sementes, pode ser utilizada com sucesso em programas de melhoramento genético para a avaliação da qualidade das sementes de soja. Uma vez que se trata de um caráter de alta variabilidade, possibilitando assim a abertura para mais estudos sobre o assunto. De modo a propiciar ainda mais o desenvolvimento de linhagens e cultivares com sementes de melhor qualidade, apresentando maior tolerância à deterioração no campo e no armazém.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados neste trabalho, foi possível concluir que o teor de lignina varia em populações de soja, sendo os híbridos CD202 x CA115 e CD201 x Syn1279 os materiais que apresentaram as maiores concentrações deste polímero em seus respectivos tegumentos.

Após análise ultraestrutural do tegumento das sementes, verificou-se que as progênies que apresentaram as maiores espessuras de células paliçádicas e em ampulheta foram, respectivamente, a CD201 e CD202. Estas também foram as que apresentaram as maiores espessuras de camadas de células, quando células paliçádicas e em ampulheta foram analisadas em conjunto. Contudo, segundo os dados obtidos neste estudo, a espessura do tegumento entre as progênies não demonstrou relação direta com a qualidade de sementes.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, E. Introdução à microscopia eletrônica de varredura. Lavras: FAEPE, 2006. 43p.
- BALDONI, A.; VON PINHO, E.V.R.; FERNANDES, J.S.; ABREU, V.M.; CARVALHO, M.L.M. Gene expression in the lignin biosynthesis pathway during soybean seed development. *Genetics and Molecular Research*, v. 12, p. online, 2013.
- BOERJAN, W.; RALPH, J.; BAUCHER, M. (2003). Lignin biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54: 519-546.
- BOUDET, A. M.; KAJITA, S., GRIMA-PETTENATI, J.; GOFFNER, D. (2003). Lignins and lignocellulosics: a better control of synthesis for new and improved uses. *Trends Plant Sci.* 8: 576-581.
- CAMARA, G. M. S. Introdução ao agronegócio soja. Piracicaba, 2015. 11 p.
- CARVALHO, E. R. et al. Physiological quality of seeds in conventional and glyphosate-resistant soybean produced by foliar application of manganese. *Bragantia*, Campinas, v. 73, n. 3, p.219-228, 2014.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Safra grãos. Brasília, 2019. Disponível em: <file:///C:/Users/85035141/Downloads/BoletinsZGraosZZmaioZ-ZresumoZZ2019.pdf>. Acesso em: 10 jun. de 2019.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Safra grãos. Brasília, 2017. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safra-graos/boletim-da-safra-de-graos?start=20>>. Acesso em: 17 jul. de 2017.
- COSTA, N. P. et al. Qualidade fisiológica, física e sanitária de sementes de soja produzidas no Brasil. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 25, n. 1, p. 128-132, 2003.
- COSTA, A. V. Avaliação da qualidade fisiológica da semente de soja (*Glycine max* L. Merrill) com tegumento impermeável, produzida em três localidades do Brasil Central. 1984. 146f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- COSTA, N. P. da; MESQUITA, C. de M.; MAURINA, A. C.; FRANÇA NETO, J. de B.; PEREIRA, J. E.; BORDINGNON, J. R.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A. A. Efeito da colheita mecânica da soja nas características físicas, fisiológicas e químicas das sementes em três estados do Brasil. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.23, n. 1, p.140-145, jan/fev. 2001.
- CUSTÓDIO, C. C.; MACHADO NETO, N. B.; MASSAKI ITO, H. VIV AN, M.R. Efeito da submersão em água de sementes de feijão na germinação e no vigor. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.24, n.2, p.49-54, mar./abr. 2002.

EGG-MENDONÇA, C. V. do C. Caracterização química e enzimática de famílias de feijões obtidas do cruzamento das linhagens Amarelinho e CI-107. 2001. 48p. Dissertação (Mestrado em Agrobioquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Soja em números (safra 2017/2018). Londrina, 2018. Disponível em:

<<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 10 jun. de 2019.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2005. Sistema de Produção 6. Embrapa, Londrina, 239p., 2005.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Tecnologias de produção de soja – região central do Brasil. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste: Fundação Meridional, 2004. 239 p.

ESAU, K. Anatomia das plantas com sementes. São Paulo: E.Blucher, 1976. 293p.

FRANÇA NETO, J. B. et al. Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade. Informativo ABRATES, Londrina, v. 20, n. 3, p. 26-32, 2010. ISSN 1516-7860.

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

FRANÇA NETO, J.B. et al. Comparação de diversos tipos de embalagens para o armazenamento de sementes de soja. In: Embrapa -CNPSo. Resultados de Pesquisa de Soja 1983/84. Londrina: Embrapa -CNPSo, 1984. p.105-111.

GALLET, S.R. Introdução a microscopia eletrônica. Biológico, São Paulo, v.65, n1/2, p.33-35. 2003.

GARCIA, D. C. et al. A secagem de sementes. Ciência Rural, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 603-608, 2004.

GILIOLI, J. L.; FRANÇA NETO, J.B. Efeito da escarificação mecânica e do retardamento de colheita sobre a emergência de sementes de soja com tegumento impermeável. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., 1981, Brasília. Anais, Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1982, v.1, p.601-609. (EMBRAPA-CNPSo) Documentos.

HARTWIG, E. E.; POTTS, H. C. Development and evaluation of impermeable seed coats for preserving soybean seed quality. Crop Science, Madison, v.27, n.3, p.506-508, May/June 1987.

HENNING, A.A. et al. Efeito do teor de umidade e ambiente sobre a qualidade da sementes de soja armazenada em Terezina, PI. In: EMBRAPA-CNPSo. Resultados de Pesquisa de Soja 1984/85. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1985. p.448-450.

- HORLINGS, G. P.; GAMBLE, E. E.; SHAMMUG, S. S. The influence of seed size and seed coat characteristics on seed quality of soybean in the tropics. *Field Weathering Seed Science and Technology*, [S. l.], v. 19, p. 665-685, 1991.
- KNOLL, M. Aufladepotential und Sekundäremission elektronenbestrahlter Körper. *Z Tech. Phys.* v.16, 467-475, 1935.
- KOUL, K.K., Nagpal, R., Raina, N., 2000. Seed Coat Microsculpturing in Brassica and Allied Genera (Subtribes Brassicinae, Raphaninae, Moricandiinae). *Annals of Botany* 86, 385–397, 2000.
- MENEZES, M. et al. Aspectos químicos e estruturais da qualidade fisiológica de sementes de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 44, n. 12, p. 1716-1723, dez. 2009.
- MORAES, M.L.B. Comportamento da pressão estática e da frente de secagem em uma coluna de sementes de arroz. 2000. 50f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - UFPel.
- MOTTA, I. S. et al. Características agronômicas e componentes da produção de sementes de soja em diferentes épocas de semeadura. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.22, p.153-162, 2000.
- MULLER, L. Taxionomia e morfologia. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. (Ed.). *A soja no Brasil*. Campinas: ITAL, 1981. P.65-72.
- NAGATANI, T.; SAITO S.; SATO, M.; YAMADA, M. Development of an ultra high resolution scanning electron microscope by means of a field emission source and in-lens system. *Scanning Microscopy*. v.11, 901-909, 1987.
- NEUMANN, I. R. Anuário brasileiro da soja – Uma planta da China. Santa Cruz do Sul/RS: Editora Palotti, 2000. 143p. SOJA: Tudo sobre soja.
- PESKE, S. T.; PEREIRA, L. A. G. Tegumento da semente de soja. *Tecnologia de Sementes*, Pelotas, v.6, n.1/2, p.23-34, jun. 1983.
- SCOTT, A.; KNOTT, M. Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. *Biometrics*, Washington D.C., v.30, n.3, p.507-512, 1974
- SILVA, A. M. S.; CARMO, M.G.F.; OLIVEIRA, F.L.; PEREIRA, A. J. Termoterapia via calor seco no tratamento de sementes de tomate: eficiência na erradicação de *Xanthomonas campestris* PV. *Vesicatoria e efeitos sobre a semente*. *Fitopatologia brasileira*, v.27, n.6, 2002.
- SILVA, M.A.D. da; VIEIRA, R.D.; SANTOS, J.M. dos. Influência do envelhecimento acelerado na anatomia da testa de sementes de soja, cv. Monsoy 8400. *Revista Brasileira de Sementes*, v.30, p.91-99, 2008.

TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B.; BALLE, J.; TOMES, L.; STUCKEY, R. E. Effect of date of harvest maturity on soybean seed quality and *Phomopsis* sp. Seed infection. *Crop Science*, Madison, v.24, n.1, p.189-193, Apr. 1984.

VIEIRA, E. H. N.; RAVA, C. A. (Ed.). Sementes de feijão: produção e tecnologia. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 270 p.2000.

VIEIRA, R. D.; SEDIYAMA, T.; SILVA, R. F. da; SEDIYAMA, C.S.; THIÉBAUT, J. T. L. Qualidade fisiológica de sementes de quatorze cultivares de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. *Revista Ceres*, Viçosa, MG, v.30, n.172, p.408-418, 1983.

WOLF, W.J.; BAKER, F.L. Scanning electron microscopy of soybeans. *Cereal Sci. Today*. v.17, p.125-131. 1972.

ZANON, R. S. et al. Economia de escala e a produção de soja no Brasil. In: XII SemeAD - Seminários em Administração, 2009, São Paulo. XII SemeAD - Seminários em Administração, 2009.